

Aus der Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
des Robert Koch-Institutes Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Hansjürgen Raettig

Vergleichende Statistik der im Robert Koch-Institut
durchgeführten Tierversuche zur oralen Immunisierung
mit *S. typhi* murium, *E. coli* 2380, *S. schwarzengrund*
und Columbia SK-Virus

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reinhard Bleibtreu
aus Berlin

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
des Robert Koch-Institutes Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Hansjürgen Raettig

Vergleichende Statistik der im Robert Koch-Institut
durchgeführten Tierversuche zur oralen Immunisierung
mit *S. typhi* murium, *E. coli* 2380, *S. schwarzengrund*
und Columbia SK-Virus

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reinhard Bleibtreu
aus Berlin

Referent: Professor Dr. Hansjürgen RAETTIG

Korreferent: Professor Dr. Dr. Günter FUCHS

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13. Dezember 1973



Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
I. Einleitung	7
II. Herkunft des Materials	9
III. Ausführung und Diskussion	12
1. Tabellarische Ordnung der Versuche	12
2. Untersuchung von jahreszeitlicher Abhängig- keit des Impferfolges bei Versuchen mit S.typhi murium und E.coli 2380	25
3. Vergleich der Wirkungsindizes der Infektions- modelle	33
4. Analyse der Mortalitätsvorgänge und deren Vergleich	44
5. Prüfung einer Beziehung zwischen Wirkungs- index und Mortalität der Kontrolltiere	60
IV. Zusammenfassung	65
V. Literaturverzeichnis	67

I. Einleitung

Seit über zehn Jahren werden am Robert Koch-Institut Tierexperimente durchgeführt, die der Erforschung zur oralen Immunisierung mit inaktivierten Mikroorganismen dienen. In zahlreichen Versuchsreihen mit verschiedenen Tierarten wurden die Impfstoffherstellung, der Impfmodus, das Keimmateriale und die Art der Infektionsbelastung variiert, um bei guter Verträglichkeit der Impfung zu einer möglichst hohen Wirksamkeit zu gelangen. Dabei wurden schließlich gewisse Infektionsmodelle gefunden, bei denen ein guter Impfschutz vorhanden war. Diese Versuche wurden dann auch weiterhin mit gleichbleibenden Parametern durchgeführt, um bei weiteren experimentellen Forschungen auf diesem Gebiet als Vergleich und Kontrolle zu dienen.

Einer zusammenfassenden Betrachtung dieser Versuche will sich nun diese Arbeit widmen; denn im Laufe der Jahre hat sich so viel Material angesammelt, daß es sinnvoll erschien, dieses statistisch zu bearbeiten. Die einmalig großen Tierkollektive erlauben eine Analyse der Impferfolge, wie es bisher zu diesem Thema nicht möglich war. Nach einer tabellarischen Einordnung wird das umfangreiche Material mit Hilfe spezieller statistischer Methoden wie Berechnung der Mittelwerte, der Prozentzahlen und der Standardabweichungen bearbeitet. Dann werden bestimmte Meßwerte auf eine gegenseitige Beziehung hin untersucht, um zu prüfen, welche faktischen Zusammenhänge sich in diesen widerspiegeln. Graphische Darstellungen ergänzen diese Untersuchungen. Dabei werden sowohl die Ergebnisse der zusammengefaßten Versuchsreihen innerhalb der einzelnen Infektionsmodelle als auch die der Infektionsmodelle untereinander bewertet.

Bei den in dieser Arbeit berücksichtigten Keimen handelt es sich um

- a) Salmonella typhi murium
- b) Escherichia coli 2380
- c) Salmonella schwarzengrund
- d) Columbia SK-Virus.

Die oralen Impfungen mit diesen inaktivierten Mikroorganismen wurden in stets gleichbleibenden Versuchsansätzen durchgeführt, so daß sie untereinander statistisch vergleichbar sind. Das umfangreichste Zahlenmaterial findet sich bei den Versuchen mit S.typhi murium, weil diese am Beginn aller Experimente standen; daher werden sie oft einfach als "Grundversuche" bezeichnet.

Natürlich stellt sich die Frage, ob ein Vergleich dieser vier Infektionsmodelle überhaupt statthaft bzw. sinnvoll ist. Hier muß auf die Gemeinsamkeiten der Versuche hingewiesen werden: Als Versuchstiere dienten immer gleiche NMRI (Naval Medical Research Institute) - Mäuse, immunisiert wurde in allen Fällen 5 - 10 mal oral, die als Impfstoff verwendeten Keime waren hitzeinaktiviert, die Infektion war homolog, und bei allen Versuchen konnte die Wirksamkeit eines spezifischen Schutzes nachgewiesen werden. Es wurden allerdings verschiedene Infektionsbelastungen gewählt, was jedoch bei der folgenden Diskussion berücksichtigt wird: oral bei S. typhi murium und Columbia SK-Virus, intraperitoneal bei E. coli und S.schwarzengrund, da die beiden letzteren auf oralem Wege nicht mäusepathogen wirken. KINNE-SAFFRAN prüfte dies für S.schwarzengrund(4), LIETZ und RAETTIG für E.coli(14). Beide Autoren kommen aber, ebenso wie PIRINGER(20), OCKLITZ, MOCHMANN, SCHMIDT, HERING und MILLEK(16,17,18,19) zu dem Ergebnis, daß diese Art der Infektionssetzung erfolgreich zur Prüfung des Impfschutzes angewendet werden kann.

II. Herkunft des Materials

Das gesamte Zahlenmaterial stammt aus den Versuchen, wie sie am Robert Koch-Institut bei der experimentellen Forschung zur oralen Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen oder ihren Antigenen durchgeführt wurden. Eine kurze Übersicht zu diesem Thema und ein Überblick über die experimentellen Ergebnisse der über zehnjährigen Forschungsarbeit findet sich - außer in den später zitierten Quellen - bei RAETTIG(32).

Die in dieser Arbeit verwerteten Versuche wurden nach der von RAETTIG(23,29) am Modell der oralen Immunisierung mit *S.typhi murium*-Keimen beschriebenen Methode durchgeführt. Die im folgenden angegebenen Quellen der Versuchsnummern sind so zu verstehen, daß die zitierten Autoren diesen Immunisierungsmodus als vergleichenden Maßstab für die Wirksamkeit in positiven Kontrollversuchen durchführten und dabei in hier nicht berücksichtigten Parallelversuchen im Rahmen ihrer speziellen Aufgabenstellung die Versuchsanordnungen modifizierten.

Die angegebenen Versuchsnummern beziehen sich auf Spalte 1 der entsprechenden Tabellen 1 - 4.

S.typhi murium

In Versuch Nr. 1 - 29b wies RAETTIG(23,26) zunächst die Wirksamkeit der oralen Immunisierung mit hitzeinaktivierten *S.typhi murium*-Bakterien gegenüber oraler homologer Infektion nach.

Versuch Nr. 51 - 55 wurden vom gleichen Autor zur Feststellung der optimalen Dosierung und des wirksamsten Impfrhythmus durchgeführt(29).

Bei der Suche nach optimalen Inaktivierungsmethoden hat I. KORDES (10) in Versuch Nr. 56 - 73 chemische, und B. KORDES (9) in Versuch Nr. 74 - 83 physikalische Verfahren ge-

prüft. BARTELHEIMER(1), Versuch Nr. 141 - 148, verglich den Schutz der Impfungen mit verschiedenen inaktivierten R-Stämmen. I. KORDES, B. KORDES, H. PICHL, B. GANZE und H. RAETTIG (11), Versuch Nr. 215 - 217 benutzten verschiedene Herstellungsverfahren des Impfstoffes. RAETTIG (33), Versuch Nr. 218 - 222, variierte den Immunisierungszeitpunkt. KOHL-SCHMIDT (6), Versuch Nr. 232 - 237, prüfte, ob es bei Überdosierung des Impfstoffes zur Immunparalyse kommt. KOLB (7), Versuch Nr. 239 - 250, untersuchte die Wirksamkeit von Impfstoffen, die er mit Hilfe der RIBI-Presse aus Zellwand- und Protoplasmafraktionen von *S.typhi murium*-Bakterien gewann. SCHMUDDE (35), Versuch Nr. 325 - 330, verglich die Wirksamkeit des Impfstoffes mit und ohne Dimethylsulfoxyd-Zugabe bei oraler, nasaler und rektaler Applikation. BIRNSCHEIN (2), Versuch Nr. 331 - 336, erweiterte die Untersuchung über Fraktionsimpfstoffe mit Fraktionierungen von RNS, LPS, Lipid und Protein. WESTENDORF (37), Versuch Nr. 342 - 348, prüfte die Wirkung einer unspezifischen Impfung mit *Bifidus*-Bakterien mit anschließender oraler *S.typhi murium*-Infektion.

E.coli 2380

Die Versuche Nr. 209 - 214 wurden von RAETTIG und LIETZ (13, 14) durchgeführt, um zunächst einmal in Analogie zum Infektionsmodell mit *S.typhi murium*-Bakterien die Wirksamkeit von oraler Immunisierung mit hitzeinaktiviertem Impfstoff aus *E.coli* zu beweisen. Die Versuche Nr. 271 - 281 wurden von MARQUARDSEN (15) als Maßstab für die Wirksamkeit bei der Untersuchung von Kombinationsimpfstoffen durchgeführt. WESTENDORF (37), Versuch Nr. 342 - 348, verglich die Wirksamkeit gegenüber einer unspezifischen Immunisierung mit *Bifidus*-Bakterien bei anschließender intraperitonealer Belastung mit virulenten *E.coli*-Bakterien. PREHL (21) führte die Versuche Nr. 378 - 400 im Rahmen der tierexperimentellen Prüfung der Wirksamkeit des Präparates "Omniflora" gegenüber i.p.-Infek-

tion mit Dyspepsiecolibakterien durch. STEFFEN (36) dienten die Versuchsergebnisse Nr. 457 - 465 als Vergleich, während er in Parallelversuchen noch innerhalb der Immunisierungsphasen infizierte, um so die Zeitkinetik des Schutzes nach oraler Impfung festzustellen.

S.schwarzengrund

Auch bei diesen Versuchen wurde nach dem von RAETTIG (23,29) angegebenen Schema immunisiert und anschließend intraperitoneal infiziert, weil nur dieser Infektionsweg mäusepathogen wirkte, wie KINNE-SAFFRAN (4), Versuch Nr. 251 - 262 unter anderen für S.schwarzengrund-Keime bewies. Folgenden Autoren diente dieses Infektionsmodell als vergleichbarer Maßstab für die bei eigenen Versuchen modifizierten Ausführungen: KURSCHILGEN (12), Versuch Nr. 263 - 270, prüfte die unspezifische Wirkung der oralen Immunisierung mit Enteritis-erregenden Salmonellen, MARQUARDSEN (15), Versuch Nr. 271 - 281, untersuchte die Wirksamkeit von Kombinationsimpfstoffen. Die Versuche Nr. 251 - 281 sind außerdem in der 9. und 11. Mitteilung zur oralen Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen zusammengefaßt (5,31).

Columbia_Sk-Virus

Das gesamte Material dieser Versuche stammt von RAETTIG. Nachdem er zuvor die Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus geprüft hatte (24,25,34), führte er im Jahr 1965 erstmalig die orale Immunisierung mit hitzeinaktivierten enteropathogenen Col.Sk-Virus durch und bewies die Wirksamkeit der Methode (27,28), Versuch Nr. 151 - 178. Auch die Frage der Spezifität der Impfung wurde von RAETTIG (27), Versuch Nr. 179 - 187, am Virusmodell geprüft.

III. Ausführung und Diskussion

1. Tabellarische Ordnung der Versuche

Zunächst wurde das in Frage kommende Material aus dem Robert Koch-Institut gesichtet, chronologisch geordnet und - soweit nicht geschehen - die prozentuale Aufteilung sowie die Wirkungsindizes berechnet. Der Wirkungsindex ist bei diesen Versuchen das wohl wichtigste Kriterium überhaupt, weil hierdurch der Erfolg der Impfung ausgedrückt wird. Die Berechnung erfolgt nach der Gleichung

$$WI = \frac{(b-a)}{b} \times 100,$$

wobei a die Endmortalität der geimpften Mäuse, b die der nichtgeimpften Kontrolltiere bedeutet. Ein WI = 100 bedeutet völliger Impfschutz, bei WI = 0 bietet die Impfung keinen Schutz.

a) S.typhi_murium

Die Tabelle 1 zeigt eindrucksvoll den Umfang des hier zur Verfügung stehenden Zahlenmaterials. Die Zahl der mit Datum versehenen Versuche beträgt 130, die Gesamtzahl der durchgeführten Versuche ist 143. 16 292 Tiere wurden benutzt, die Mortalität der Geimpften beträgt 30,7 %, die Gesamtmortalität der Kontrollen 58,8 %. Daraus ergibt sich als Mittel aller Versuche ein Wirkungsindex von 47,8. Bei den Versuchen ist eine große Streubreite der Wirkungsindizes von 0 - 95,2 vorhanden. Die extremen Werte sind allerdings nicht sehr häufig: Viermal ist der WI kleiner als 5, nur zweimal liegt er über 90.

Von März 1963 bis Mai 1965 wurden keine Versuche in dem für diese Betrachtung notwendigen Infektionsmodell durchgeführt.

b) E.coli_2380

Tabelle 2 zeigt 55 Versuche mit E.coli, die unter gleichen Bedingungen von November 1965 bis Mai 1971 durchgeführt wurden. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt 4 934, die Gesamtmortalität der Geimpften 16,9 %, die der Kontrollen 63,7 %. Es ergibt sich hiermit ein WI von 73,5 im Durchschnitt aller Versuche.

Die Schwankungsbreite des WI von 34,6 - 100 ist entschieden geringer als bei den übrigen in dieser Arbeit besprochenen Versuchsreihen. Der WI von 100 wird viermal erreicht.

c) S.schwarzengrund

In Tabelle 3 sind die Werte für die Versuche mit S.schwarzengrund aufgeführt. Es handelt sich um 24 Versuche an insgesamt 2 362 Tieren. Die Gesamtmortalität der Geimpften beträgt 43,4 %, die der Kontrollen 81,8 %. Der Mittelwert der Wirkungsindizes liegt bei 46,9. Das Minimum bei WI = 3,4, und das Maximum WI = 100 werden nur je einmal erreicht; ansonsten sind die Wirkungsindizes ziemlich gleichmäßig zwischen WI = 15 und WI = 75 verteilt.

Zeitangaben für diese Versuche liegen nicht vor.

d) Columbia SK-Virus

Tabelle 4 zeigt die Werte für die Versuchsreihen mit Columbia SK-Virus. Ebenso wie bei S.schwarzengrund wurden auch hier 24 Versuche durchgeführt, jedoch ist das Tiermaterial von 1 096 Tieren nur etwa einhalb so groß. Die Gesamtmortalität der Geimpften beträgt 22,6 %, die der Kontrollen 51,1 %. Der durchschnittliche Wirkungsindex liegt bei 55,8. Das WI-Minimum liegt bei 10, das WI-Maximum von 100 wird zweimal erreicht.

Auch für diese Versuche liegen keine zeitlichen Angaben vor.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse und die statistische Auswertung der einzelnen Versuchsreihen zusammengefaßt.

Tab. 1: S.typhi murium - Orale Immunisierung mit hitze-inaktivierten Keimen, orale homologe Infektion, mehr als fünfmalige Gabe

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	%	n	†	%	
1/2	XII	60	49	18	36,8	49	33	67,3	45,3
3	II	61	83	38	45,8	83	66	79,4	42,3
5	V	61	89	37	41,6	100	84	84,0	50,5
9	VII	61	33	26	78,9	38	27	71,0	-
10	VIII	61	47	13	27,7	60	31	51,6	46,3
11	X	61	97	29	29,9	89	50	56,1	46,7
12	XI	61	94	49	52,1	90	64	71,0	26,6
13	I	62	89	22	24,7	70	22	31,4	21,3
18	V	62	25	8	32,0	90	45	50,0	36,0
19	VII	62	65	13	20,0	60	25	41,6	51,9
20	X	62	48	3	6,2	50	18	36,0	82,8
20a	X	62	42	5	11,9	50	14	28,0	51,5
25	XII	62	77	2	2,6	70	38	54,2	95,2
26a	I	63	47	12	25,5	35	20	57,1	55,3
26b	I	63	36	21	57,9	35	12	34,0	-
27	II	63	78	10	12,8	40	12	30,0	57,3
28a	II	63	58	18	28,9	40	31	77,5	62,7
28b	II	63	35	4	11,4	40	16	40,0	71,5
29a	III	63	52	4	7,7	40	17	42,5	77,0
29b	III	63	43	2	4,6	40	24	60,0	92,3
124	V	65	58	5	8,6	57	8	14,0	38,6
126	V	65	53	6	11,3	59	14	23,7	52,3
130	VI	65	68	18	26,5	67	21	31,3	15,3
171	VII	65	25	7	28,0	25	14	56,0	50,0
172	VII	65	25	6	24,0	25	14	56,0	57,1
134	VII	65	80	19	23,8	75	25	33,3	28,5
51	I	66	97	24	24,7	36	27	75,0	59,6
52	III	66	84	20	23,8	49	30	61,2	61,1
556	III	66	60	33	55,0	60	46	76,8	28,4
369	III	66	49	32	65,2	50	43	86,0	24,2
351	III	66	51	17	33,3	52	32	61,7	46,0

Forts. Tab. 1

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	%	n	†	%	
57	IV	66	75	40	53,2	75	44	58,7	9,4
58	IV	66	45	30	66,7	70	54	78,2	14,7
59	IV	66	45	21	46,6	75	54	72,0	35,3
60	IV	66	45	13	28,9	75	43	57,2	49,1
352	IV	66	68	51	75,0	76	60	79,0	5,1
353	V	66	50	24	48,0	51	36	70,6	32,0
55	VI	66	99	8	8,1	61	33	54,1	85,0
62	VI	66	41	17	41,5	71	49	69,0	39,9
63	VI	66	23	7	30,4	48	12	25,0	-
64	VII	66	94	5	5,3	36	5	13,9	61,9
65	VII	66	80	9	11,2	35	9	25,7	56,4
354	VII	66	50	14	28,0	48	17	35,4	20,9
67	VIII	66	113	35	31,0	59	37	62,8	50,6
68	IX	66	60	22	36,7	60	27	45,0	38,4
69	IX	66	120	38	31,6	60	34	56,0	44,4
70	IX	66	120	31	25,8	60	22	36,6	29,5
73	XI	66	80	39	48,7	40	32	80,0	39,1
319	XI	66	50	11	22,0	50	28	56,0	60,7
370	XI	66	48	12	25,0	49	23	47,0	46,8
74	XII	66	100	28	28,0	50	26	52,0	46,2
75	XII	66	71	22	31,0	38	24	63,0	50,8
76	I	67	100	24	24,0	50	25	50,0	52,9
321	I	67	49	24	49,0	56	36	64,3	23,8
322	II	67	48	22	48,8	49	35	71,4	35,9
357	II	67	100	29	29,0	49	27	55,1	62,1
77	II	67	99	31	34,0	50	28	56,0	39,3
78	III	67	134	41	30,6	30	22	73,3	58,3
365	III	67	37	10	27,1	45	21	46,6	41,8
366	III	67	41	15	36,6	34	19	55,9	34,5
323	III	67	48	24	50,0	48	45	93,7	32,4
358	III	67	99	30	30,3	49	29	59,2	48,8
79	IV	67	249	76	30,5	50	34	68,0	55,1
80	IV	67	250	77	30,8	50	37	74,0	58,4
81	IV	67	250	113	45,2	50	43	86,0	60,0

Forts. Tab. 1

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	%	n	†	%	
324	IV	67	51	29	56,8	51	37	72,8	22,0
359	V	67	84	49	58,2	50	41	82,0	29,0
367	V	67	52	19	36,5	49	31	63,2	42,2
368	V	67	28	8	28,6	21	14	66,6	57,1
361	VI	67	93	34	36,6	42	24	57,1	35,9
371	VIII	67	47	18	38,3	46	39	84,8	54,8
82	VIII	67	50	9	18,0	50	26	52,0	65,4
83	IX	67	50	17	34,0	50	32	64,0	46,9
218	IX	67	21	9	42,8	11	9	81,9	47,7
219	X	67	12	6	50,0	13	11	84,5	40,8
220	X	67	19	9	47,3	13	11	84,5	44,0
287	X	67	41	21	51,2	46	40	87,0	41,1
288	XI	67	50	25	50,0	30	22	73,3	31,8
149	XII	67	47	17	36,2	54	33	61,1	40,8
221	XII	67	21	9	42,9	8	6	75,0	42,8
289	I	68	44	17	38,6	43	23	53,6	28,0
290	III	68	48	12	25,0	50	31	62,0	59,4
290a	IV	68	89	49	55,0	96	56	58,2	5,5
372	IV	68	50	23	46,0	50	32	64,0	28,1
222	V	68	48	23	48,0	53	34	64,2	25,2
84	X	68	50	12	24,0	50	39	78,0	69,2
373	XI	68	50	9	18,0	50	28	56,0	67,9
331	XII	68	50	10	20,0	50	18	36,0	44,4
332	I	69	50	14	28,0	50	34	68,0	58,8
233	II	69	50	23	46,0	50	32	64,0	36,3
333	II	69	49	20	40,8	50	36	72,0	43,3
345	II	69	46	18	39,1	29	18	62,0	36,9
346	III	69	49	11	22,4	47	18	38,3	41,5
334	III	69	50	10	20,0	47	34	72,2	72,3
239	III	69	50	16	32,0	50	33	66,0	51,5
240	III	69	50	22	44,0	50	30	60,0	26,7
234	III	69	147	60	40,8	56	34	60,7	32,8

Forts. Tab. 1

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	■	n	†	%	
235	IV	69	49	21	42,8	59	48	81,4	47,4
236	IV	69	56	20	35,7	52	30	57,7	38,1
241	V	69	47	12	25,5	49	36	73,7	65,4
242	V	69	49	24	49,0	43	34	79,0	42,9
335	V	69	49	15	30,6	50	33	66,0	53,6
336	V	69	48	24	50,0	47	39	83,0	39,8
237	VI	69	54	14	25,9	55	25	45,5	43,1
243	VI	69	100	38	38,0	50	36	72,0	47,2
440	VI	69	50	11	22,0	50	30	60,0	63,3
244	VII	69	46	13	28,2	33	18	54,5	48,3
441	VII	69	50	17	34,0	50	37	74,0	54,1
342	XI	69	50	18	36,0	48	25	52,0	30,1
245	XII	69	47	15	31,9	48	28	58,2	45,2
246	XII	69	96	9	9,4	97	22	22,7	58,6
243	XII	69	75	22	29,3	75	23	30,7	4,6
442	I	70	50	12	24,0	50	25	50,0	52,0
443	I	70	49	12	24,5	50	22	44,0	44,3
247	I	70	100	20	20,0	100	33	33,0	39,4
248	II	70	50	14	28,0	50	26	52,0	46,2
444	II	70	49	10	20,4	50	22	44,0	53,6
145	II	70	49	12	24,5	50	25	50,0	51,0
146	II	70	49	10	20,4	50	22	44,0	53,6
147	II	70	50	9	18,0	50	22	44,0	59,1
344	II	70	50	121	24,0	52	23	44,2	45,7
445	III	70	50	9	18,0	50	21	42,0	57,1
446	IV	70	50	12	24,0	50	27	54,0	55,6
142	IV	70	50	11	22,0	50	28	56,0	60,7
143	V	70	50	17	34,0	50	30	60,0	43,3
148	V	70	50	12	24,0	50	27	54,0	55,6
347	V	70	50	1	2,0	50	5	10,0	80,0
348	VI	70	48	12	25,0	50	22	44,0	43,2

Forts. Tab. 1

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	%	n	†	%	
144	VII	70	50	12	24,0	50	37	74,0	67,6
374	V	71	49	12	25,5	48	29	60,3	57,7
425	-	-	50	11	22,0	50	29	58,0	62,1
426	-	-	49	10	20,4	50	22	44,0	53,6
427	-	-	61	7	11,5	45	18	40,0	71,3
428	-	-	48	16	33,3	64	35	54,7	39,1
429	-	-	46	16	34,8	49	25	51,0	31,8
326	-	-	35	9	25,7	38	24	63,1	59,3
327	-	-	48	10	20,8	56	21	37,5	44,5
328	-	-	40	13	32,5	36	14	38,9	16,0
329	-	-	49	31	63,2	50	43	86,0	26,5
330	-	-	47	21	44,7	50	35	70,0	47,9
216a	-	-	50	17	34,0	50	26	52,0	34,6
217a	-	-	50	18	36,0	50	36	72,0	50,0
215a	-	-	49	18	36,7	50	35	70,0	47,6

Tab. 2: E.coli 2380 - Orale Immunisierung mit hitze-
inaktivierten Keimen, intraperitoneale homologe
Infektion

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	†	† %	n	†	† %	
209	XI	65	49	3	6,1	51	42	82,4	92,6
210	I	66	49	5	10,2	41	30	73,2	86,1
211	I	66	47	13	27,7	50	36	72,0	61,6
212	III	66	64	4	6,2	58	47	81,1	92,3
213	VI	66	54	30	55,6	53	45	84,9	34,6
271	VII	66	49	4	8,2	50	24	48,0	82,9
214	VIII	66	31	5	16,1	41	27	65,9	75,5
272	VIII	66	50	10	20,0	48	38	79,2	74,7
273	VIII	66	44	12	27,3	46	38	82,6	66,9
274	IX	66	50	8	16,0	50	42	84,0	81,0
380	VI	67	50	12	24,0	50	29	58,0	58,6
282	VII	67	25	4	16,0	25	16	64,0	75,0
283	VII	67	23	6	26,1	25	25	100,0	73,7
381	VII	67	50	6	12,0	50	37	74,0	83,8
382	VII	67	50	1	2,0	37	14	37,9	94,7
383	VII	67	39	12	31,0	47	40	85,2	63,6
384	VIII	67	44	11	25,0	50	38	76,0	67,1
284	VIII	67	25	2	8,0	25	16	64,0	87,5
385	VIII	67	39	2	5,1	41	24	58,6	91,3
386	VIII	67	46	6	13,1	43	19	44,3	70,4
285	IX	67	25	2	8,0	24	9	37,5	78,7
286	X	67	25	7	28,0	25	21	84,0	66,7
387	XI	67	43	15	35,0	47	32	67,8	48,4
388	XI	67	38	17	44,6	33	28	85,1	47,6
389	XI	67	35	11	31,5	41	28	70,3	55,2
390	XI	67	50	10	20,0	50	32	64,0	68,8
391	XI	67	50	10	20,0	50	49	98,0	79,6
297	III	68	50	16	32,0	50	31	62,0	48,4
298	III	68	50	11	22,0	50	32	64,0	65,6

Forts. S. 21

Forts. Tab. 2

Versuch Nr.	Z e i t		geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Mon.	Jahr	n	+	+	n	+	+	
296a	V	68	49	4	8,2	50	19	38,0	78,4
295a	VI	68	49	5	10,2	50	21	42,0	75,7
393	VII	68	50	4	8,0	50	27	54,0	85,2
394	XII	68	50	7	14,0	50	26	52,0	73,1
395	II	69	50	12	24,0	50	34	68,0	64,7
396	III	69	50	10	20,0	50	25	50,0	60,0
397	III	69	50	15	30,0	50	35	70,0	57,1
398	IV	69	50	15	30,0	50	36	72,0	58,3
399	V	69	49	9	18,4	50	24	48,0	61,7
400	VI	69	50	14	28,0	50	39	78,0	64,1
342	XI	69	49	-	-	49	5	10,2	100,0
379	XI	69	50	7	14,0	50	31	62,0	77,4
343	XII	69	75	-	-	70	16	22,9	100,0
344	I	70	52	4	7,7	54	38	70,4	89,1
346	II	70	50	-	-	50	23	46,0	100,0
347	V	70	49	1	2,0	51	23	45,1	95,6
348	VI	70	47	2	4,3	50	30	60,0	92,8
457a	II	71	50	4	8,0	50	31	62,0	87,1
458a	II	71	50	1	2,0	50	29	58,0	96,5
459	II	71	48	5	10,4	50	29	58,0	82,0
460a	III	71	50	6	12,0	50	27	54,0	77,8
461a	III	71	50	-	-	50	35	70,0	100,0
462	III	71	48	3	6,3	50	27	54,0	88,4
463a	V	71	50	4	8,0	51	28	54,9	85,4
464	V	71	49	6	12,2	51	34	66,6	81,6
465	V	71	49	14	28,6	50	28	56,0	48,9

Tab. 3: S.schwarzengrund - Orale Immunisierung mit hitze-inaktivierten Keimen, intraperitoneale homologe Infektion

Versuch Nr.	geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	n	†	% †	n	†	% †	
251	71	19	26,8	72	68	94,4	71,6
252	80	42	52,5	81	81	100,0	47,5
253	83	53	63,9	82	75	91,5	30,2
263	48	24	50,0	55	52	94,5	47,1
264	42	32	76,2	44	44	100,0	23,8
265	29	17	58,6	29	27	93,1	37,1
266	41	29	70,7	43	36	83,7	15,5
271	49	16	32,6	50	48	96,0	65,9
272	46	18	39,1	50	45	90,0	56,6
273	49	41	83,7	49	49	100,0	16,3
274	50	32	64,0	50	47	94,0	31,9
276	49	36	73,2	48	46	95,8	23,6
277	48	34	70,8	38	38	100,0	29,2
278	49	11	22,4	48	29	60,4	62,9
279	50	13	26,0	50	24	48,0	45,0
281	48	23	47,9	49	31	63,3	24,3
282	25	5	20,0	25	10	40,0	50,0
283	23	18	78,3	24	23	95,8	18,3
284	24	0	-	25	4	16,0	100,0
285	25	6	24,0	25	13	52,0	53,8
286	23	8	34,8	25	9	36,0	3,4
362	50	11	22,0	50	22	44,0	50,0
363	50	30	60,0	50	42	84,0	28,6
364	50	25	50,0	50	48	96,0	47,9

Tab. 4: Columbia SK-Virus - Orale Immunisierung mit wärme-inaktivierten Keimen; orale, homologe Infektion

Versuch Nr.	geimpfte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	n	†	% †	n	†	% †	
151	25	9	36,0	25	10	40,0	10,0
152	29	17	58,6	30	27	90,0	34,9
153	30	-	-	30	9	30,0	100,0
154	25	1	4,0	25	4	16,0	75,0
155	25	1	4,0	25	6	24,0	83,3
156	25	3	12,0	25	5	20,0	40,0
157	14	3	21,4	21	15	71,4	70,1
158	22	5	22,7	23	8	34,8	34,8
160	24	15	62,5	27	20	74,1	15,6
161	25	4	16,0	25	5	20,0	20,0
163	24	2	18,3	23	4	17,4	53,3
166	24	7	29,2	24	11	45,8	36,2
167	25	5	20,0	28	18	64,3	69,2
168	23	9	39,1	25	17	68,0	42,5
169	25	4	16,0	21	13	61,9	74,0
179	11	2	18,0	20	8	40,0	55,0
180	20	7	35,0	20	9	45,0	33,3
181	16	5	31,3	19	17	89,5	65,4
182	17	4	23,5	20	15	75,0	68,6
183	18	9	50,0	15	10	66,7	24,9
184	20	3	15,0	16	14	87,5	82,4
185	25	3	12,0	23	9	39,1	69,6
186	25	-	-	26	20	76,9	100,0
187	19	3	15,8	24	12	50,0	68,4

Tab. 5: Ergebnisse und statistische Auswertung der verschiedenen Versuchsreihen

	S. typhi murium	E. coli 2380	S. schwarzengrund	Col. SK-Virus
Anzahl der Versuche	143	55	24	24
Wirkungsindex	47,8	73,5	46,9	55,8
Min./Max.	0 / 95,2	34,6 / 100	3,4 / 100	10 / 100
Gesamtzahl der Tiere	16 292	4 934	2 362	1 096
Geimpfte	9 211	2 407	1 250	536
Kontrollen	7 081	2 527	1 112	560
Endmortalität in %				
Geimpfte	30,7	16,9	43,4	22,6
Kontrollen	58,8	63,7	81,9	51,1

2. Untersuchung von jahreszeitlicher Abhängigkeit des
Impferfolges und der Infektion bei Versuchen mit
S.typhi murium und E.coli

Diese Untersuchung dient der Beantwortung der im Jahr 1964 erstmalig von RAETTIG (23) erhobenen Fragestellung, ob der Impferfolg eine jahreszeitliche Abhängigkeit zeigt. Damals wurde die Zufallsbeobachtung gemacht, daß die im Frühjahr und Herbst erzielten Impferfolge gegenüber den anderen scheinbar etwas günstiger waren. Die seinerzeit benutzten Tierkollektive waren zahlenmäßig zu gering, um diese Frage hinreichend beantworten zu können. Für die mit Datum versehenen Immunisierungsversuche mit S.typhi murium und E.coli ist nun eine Prüfung in diesem Sinne möglich.

S.typhi murium

In Abb. 1 sind die Wirkungsindizes der Versuche mit S.typhi murium im Verlauf der Jahre dargestellt. Von März 1963 bis Mai 1965 wurden keine Versuche durchgeführt. Sofern zum selben Zeitpunkt mehrere Versuche durchgeführt wurden, ist das Mittel errechnet und eingetragen.

Der Verlauf der Kurve läßt keine Regelmäßigkeit oder Periodizität in Abhängigkeit von der Jahreszeit erkennen. Das wird noch deutlicher in der Summenkurve der Abb. 3. Zwar sieht man hier Schwankungen des WI zwischen 38,2 - 54,3, jedoch ist die Zuordnung von niedrigen bzw. höheren Wirkungsindizes zu bestimmten Monaten nicht möglich.

Die von PRITCHETT (22) beschriebene Erhöhung der Mortalität nach oraler Infektion im Frühjahr und Herbst läßt sich allerdings auch hier beobachten. In der Abb. 2 ist die Mortalität der oral infizierten Kontrolltiere wiederum im Verlauf der Jahre dargestellt. Aus dieser Kurve läßt sich zunächst keine Gesetzmäßigkeit erkennen; trägt man aber, wie in Abb. 4 ge-

schehen, die Mortalitätsraten der einzelnen Monate auf, so zeigt sich, daß in den Frühjahrs- und Herbstmonaten durchaus eine Steigerung der Mortalität zu beobachten ist. Gestört wird diese gleichmäßige Zu- und Abnahme durch den Wert für Monat August. Andererseits wurden in diesem Monat, wie aus der zusätzlichen Abszisseneintragung ersichtlich, nur vier der insgesamt 127 für diese Berechnung verwertbaren Versuche durchgeführt. Somit ist diesem Wert keine allzu große Bedeutung beizumessen.

E.coli

Die graphische Darstellung der Wirkungsindizes in Abb. 5 und der Mortalitäten bei den Kontrolltieren in Abb. 6 im Verlauf der Jahre zeigen eine breite Streuung und Unregelmäßigkeit der Werte. Auch die entsprechenden Darstellungen der jeweiligen Monatswerte in Abb. 7 und Abb. 8 lassen keine Zuordnung eines niedrigen bzw. hohen Wertes zu einer bestimmten Jahreszeit erkennen. Das bedeutet, daß weder für die Wirksamkeit der Immunisierung noch für die Mortalitätsrate eine jahreszeitliche Abhängigkeit vorhanden ist.

Die damalige Zufallsbeobachtung und der Gedanke an eine jahreszeitliche Abhängigkeit der Impferfolge stützte sich auf 20 Versuche mit *S.typhi murium*. Anhand des vorliegenden Versuchsmaterials bei diesem Infektionsmodell und bei hinreichend großen Tierkollektiven der Versuche mit *E.coli* kommt man jetzt zu dem Ergebnis, daß sich zwischen Wirksamkeit der oralen Immunisierung einerseits und der Mortalität bei den infizierten Kontrollen andererseits für beide Keime kein Zusammenhang mit der Jahreszeit verifizieren läßt.

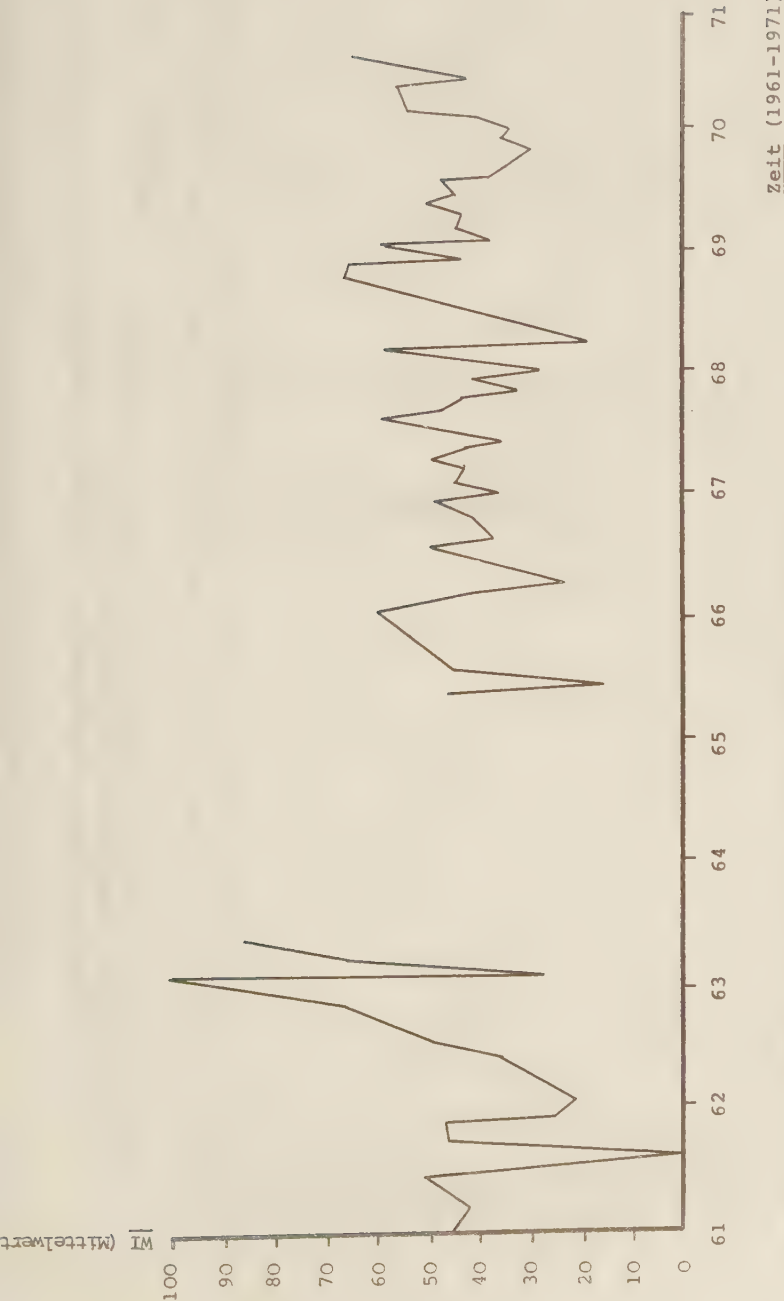


Abb. 1: orale Immunisierung mit *S. typhi murium*, Verlauf der Wirkungsindizes während der Jahre 1961 - 1971
(Von März 1963 bis Mai 1965 wurden keine Versuche durchgeführt.)

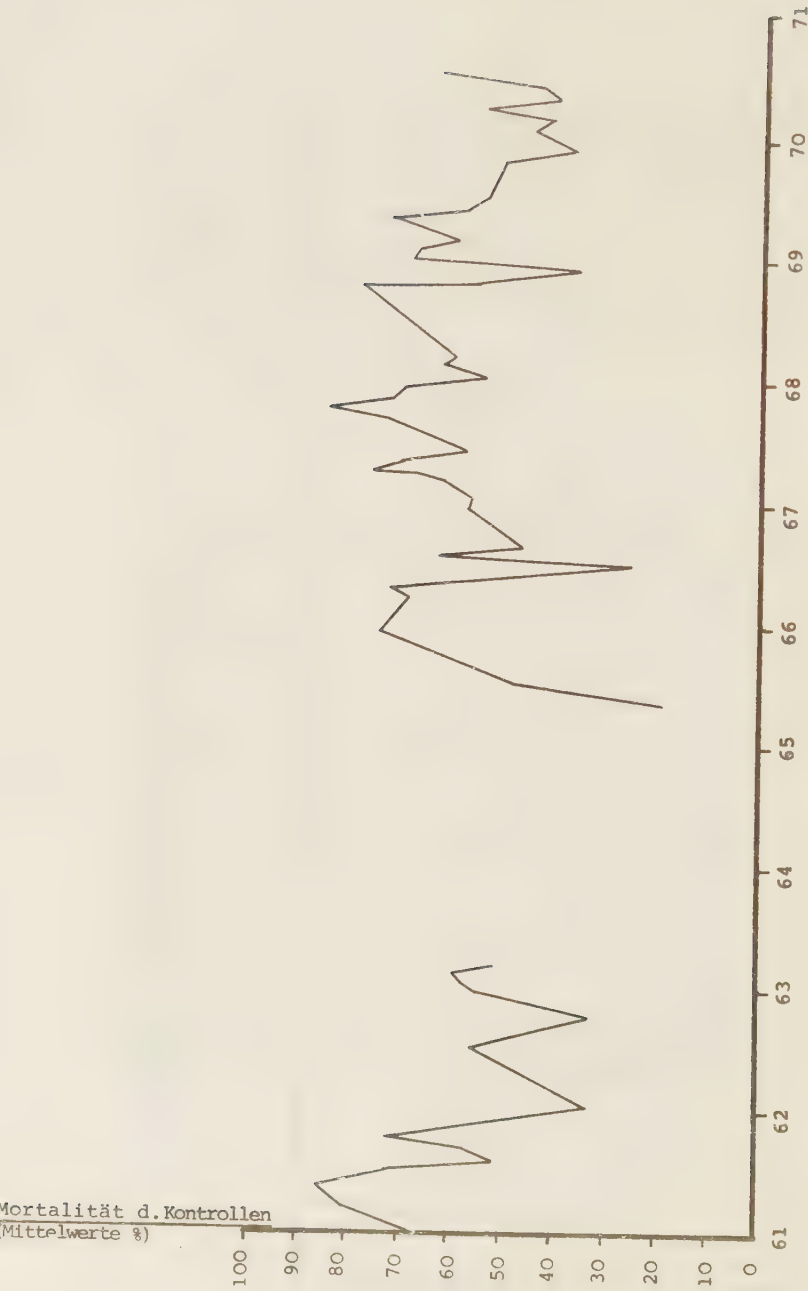


Abb. 2: orale Immunisierung mit *S. typhi murium* - Verlauf der Mortalität der Kontrolltiere während der Jahre 1961 - 1971
(Von März 1963 bis Mai 1965 wurden keine Versuche durchgeführt.)

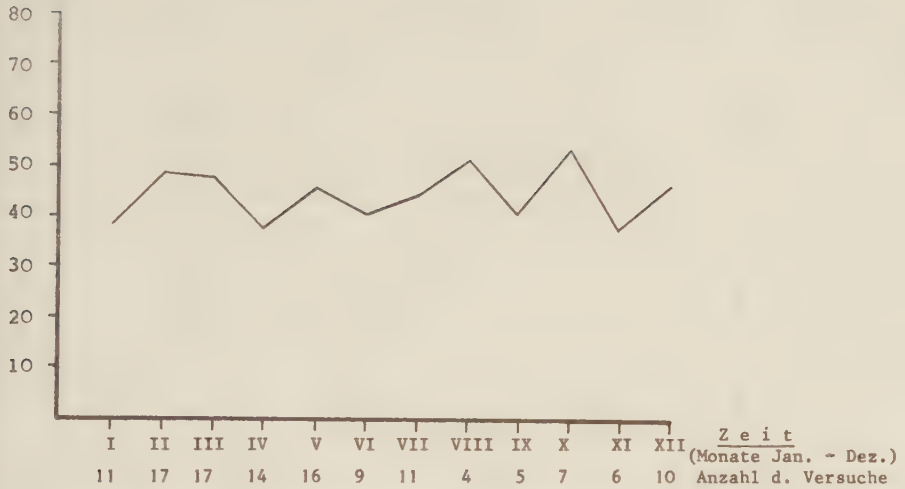


Abb. 3: Orale Immunisierung mit *S. typhi murium*
Verlauf des Wirkungsindex während der einzelnen Monate

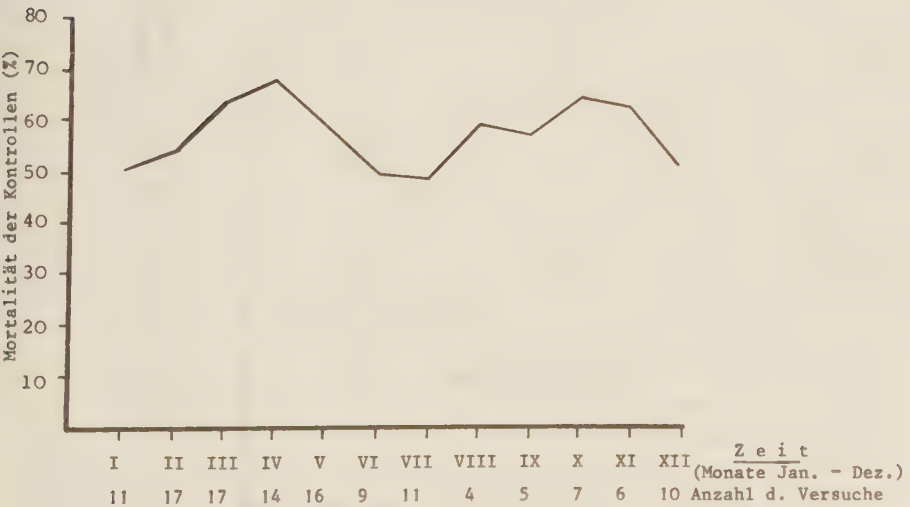


Abb. 4: Orale Immunisierung mit *S. typhi murium*
Mortalitätsraten der Kontrolltiere während der einzelnen Monate

Unterhalb der Abszissen ist die Gesamtzahl der Versuche aufgetragen, die während der Jahre in den jeweiligen Monaten durchgeführt wurden (Abb. 3 u. 4).

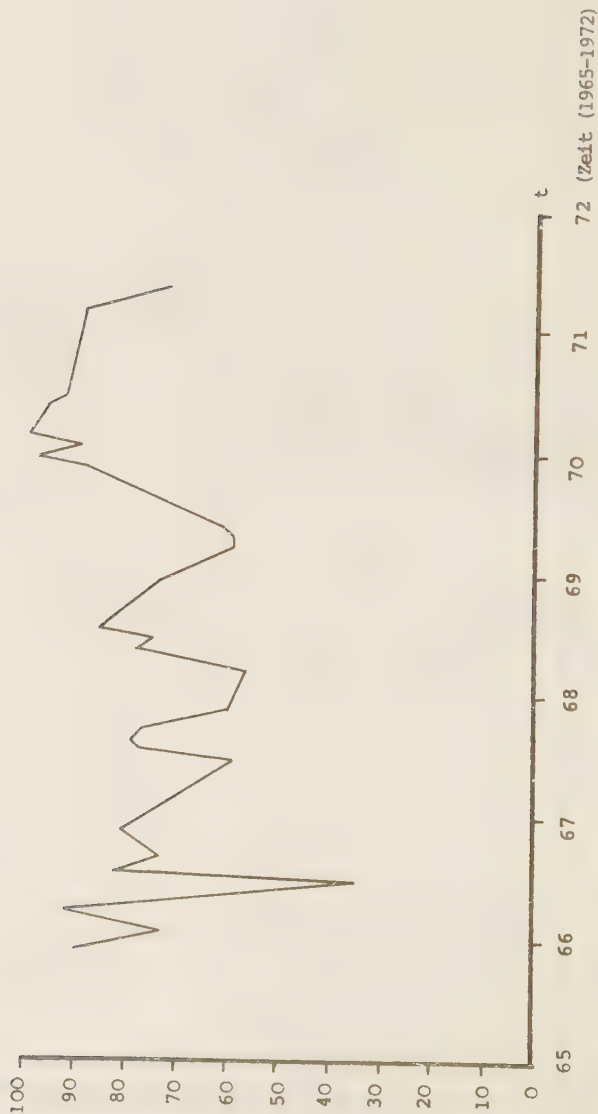


Abb. 5: Orale Immunisierung mit E.coli 2380
Verlauf der Wirkungsindizes während der Jahre 1965 - 1972

Mortalität der
Kontrollen
(Mittelwert (%))

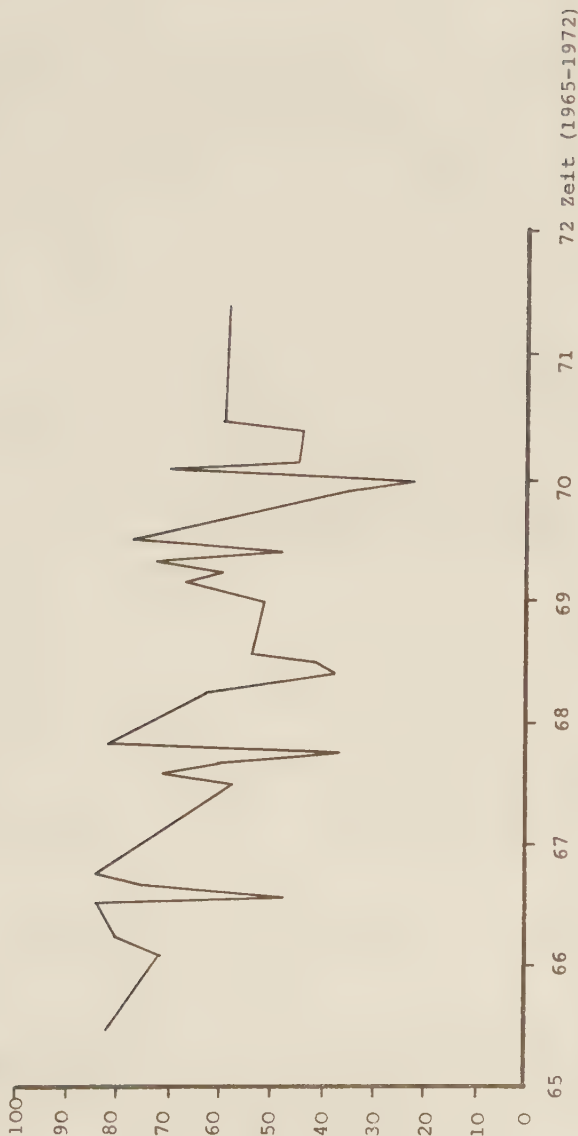


Abb. 6: Orale Immunisierung mit E.coli 2380
Verlauf der Mortalität der Kontrolltiere
während der Jahre 1965 - 1972

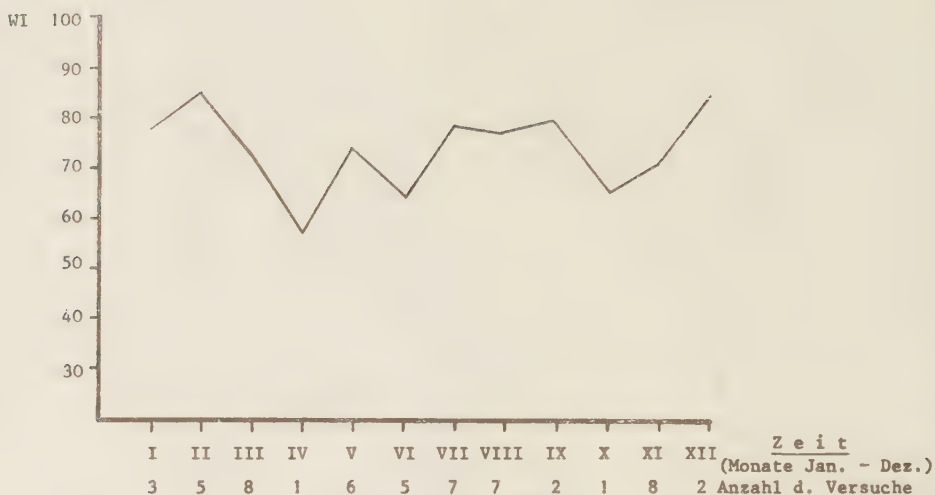


Abb. 7: Orale Immunisierung E.coli 2380
Verlauf des Wirkungsindex während der
einzelnen Monate

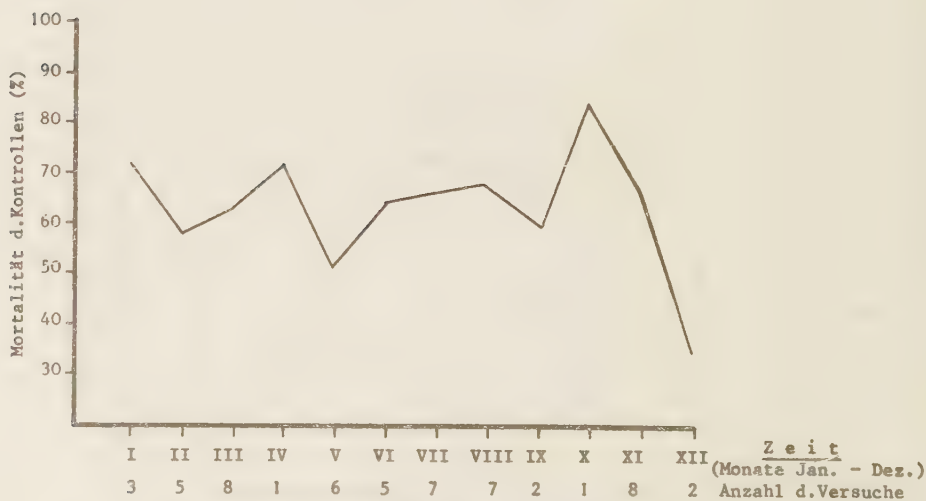


Abb. 8: Orale Immunisierung E.coli 2380
Mortalitätsraten der Kontrolltiere während
der einzelnen Monate

Unterhalb der Abszissen ist die Gesamtzahl der Versuche
eingetragen, die während der Jahre in den jeweiligen
Monaten durchgeführt wurden (Abb. 3 u. 4)

3. Vergleich der Wirkungsindizes der vier Infektionsmodelle

Die zunächst errechneten Mittelwerte der Wirkungsindizes zeigen den besten Impferfolg bei Immunisierung mit E.coli (WI = 73,5), gefolgt von Col.SK-Virus (55,8), S.typhi murium (47,8) und S.schwarzengrund (46,9). Diese Werte haben jedoch nur eingeschränkte Aussagekraft, da die Sicherheit, mit der diese Werte erreicht werden, die Minima, die Maxima und die allgemeine Streuungsbreite nicht erfaßt werden. Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte werden im folgenden zunächst die Häufigkeiten der Wirkungsindizes aller vier Keime untereinander verglichen. Zu diesem Zweck wurde in Tab. 6 zunächst eine Gruppeneinteilung der Wirkungsindizes vorgenommen. Nach KOLLER (8) kann man bei großen Beobachtungsreihen auf die Rechnung mit allen Einzelwerten verzichten und stattdessen mit ausreichender Genauigkeit eine Auswertung in Gruppen, die nur klein genug sein müssen, vornehmen. Die Skala der Gruppeneinteilung reicht von WI = 0,1 bis WI = 100. Die drei "Ausreißer" (WI = 0), wie sie im Grundversuch vorkommen, werden also aus schon genannten Gründen (23) nicht berücksichtigt. Mit der gewählten Klassenbreite von WI = 5 läßt sich das gesamte Beobachtungsmaterial in eine ausreichende Häufigkeitstabelle von 20 Klassen unterteilen. Tab. 6 zeigt die Aufteilung der Werte, die Abb. 9 - 12 deren graphische Bilder als Histiogramme. Die Höhe der Rechtecke stellt die Frequenz der vorkommenden Ereignisse in jeder Klasse dar.

Die Abb. 9 der Versuche mit S.typhi murium zeigt ein glockenförmiges Säulenbild. Zu beiden Seiten der mittleren Klasse fallen die Werte treppenförmig ab.

Abb. 10 (E.coli) zeigt eine Häufung der Fälle im höheren Bereich. Die Schwankungshöhe von drei Fällen - WI 30 - 35 ausgenommen - ist relativ gering im Verhältnis der Frequenzdifferenzen bei S.typhi murium.

Die Abb. 11 und 12 zeigen die Histiogramme der Versuche mit S.schwarzengrund und E.coli. In beiden Abbildungen finden sich unregelmäßig verteilte Lücken. Auch eine Anhäufung der Frequenzen in bestimmten Bereichen, wie in Abb. 9 und 10, ist nicht so deutlich feststellbar. Hier macht sich die Schwierigkeit bemerkbar, die durch die geringere Anzahl von je 24 Versuchen gegenüber 55 mit E.coli und 143 mit S.typhimurium entsteht. Zur besseren statistischen Vergleichbarkeit sind deshalb aus den vorliegenden Histiogrammen die Normalverteilungskurven (= Wahrscheinlichkeitsverteilungskurven) dargestellt (Abb. 13 u. 14). Es wird also davon ausgegangen, daß die empirisch erhaltenen Versuchswerte als repräsentative Stichproben einer beliebig großen statistischen Gesamtheit betrachtet werden können. Aus der Häufigkeit eines WI-Wertes in diesen Versuchen wird somit eine Wahrscheinlichkeit, mit welcher der gleiche Wert in einer größeren Gesamtheit auftreten würde.

Aus der Säulendarstellung von Abb. 9 ist eine Verteilung der Werte im Sinne einer Gaußschen Glockenkurve deutlich sichtbar. Ebenso läßt Abb. 10 eine derartige Verteilungsform erkennen. Auch für Abb. 11 und 12 kann diese Transformation vorgenommen werden; denn theoretische und experimentelle Forschung haben ergeben, daß eine Normalverteilung desto geschlossener wird, je mehr Untersuchungen vorliegen (3). Und bei den bisherigen Versuchen mit S.schwarzengrund und Col. SK-Virus sprechen keine Anzeichen dafür, daß sich die Wirkungsindizes nicht um einen bestimmten Mittelwert im Sinne einer Normalverteilung gruppieren. Dennoch müssen die verallgemeinernden Aussagen der letzteren Versuchsreihen zurückhaltender beurteilt werden.

In Abb. 13 sind nun die standardisierten Normalverteilungen der Wirkungsindizes dargestellt. Die Standardisierung geschieht durch eine Transformation der WI-Skala in eine z-Skala, die unterhalb der eigentlichen Abszisse aufgetragen

ist. Die WI-Mittelwerte ($= M$) der ursprünglichen Skala werden dabei Nullpunkte der neuen Skala. Einheit der z-Skala ist die Standardabweichung s , welche die Streuung der Meßwerte ($=$ mittlere Abweichung) beschreibt. Die zugehörigen Ordinaten lassen sich aus entsprechenden Tafeln ablesen (KOLLER, 8). Ebenfalls aus Tabellen können nun die Flächen in Prozentwerten entnommen werden, die unterhalb der Kurven liegen. Ungefähr 68 % aller Werte befinden sich zwischen $M \pm s$, 95 % zwischen $M \pm 2s$, und fast 100 % (99,73 %) liegen innerhalb der Grenzen $M \pm 3s$. Durch diesen dreifachen Wert der mittleren Abweichung wird in der Statistik herkömmlicherweise der Zufallsbereich abgegrenzt. Alle zu erwartenden Werte liegen mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,73 % innerhalb dieser 3s-Grenze bei einer entsprechenden Überschreitungswahrscheinlichkeit von 0,27 % (nach KOLLER, 8).

Durch die Höhe und Basisbreite der Kurven wird die Kumulation um den Mittelwert und die allgemeine Streuung dargestellt. So läßt sich der Erfolg und die Zuverlässigkeit der Impfungen ablesen. Die meisten Ergebnisse um den Mittelwert, d. h. über der Maximumsordinate, findet man bei den Wirkungsindizes der Versuche mit *S.typhi murium*, 12,5 % der Versuche liegen im Bereich des Mittelwertes, 11,5 % sind es bei *E.coli*, 9,3 % bei *S.schwarzengrund* und 7,8 % bei *Col.SK-Virus*.

In Tab. 7 sind dazu die jeweiligen absoluten Versuchszahlen angegeben zugleich mit anderen statistischen Angaben zu den Abb. 13 und 14.

Die kleinste Basis und damit theoretisch die geringste Schwankung der Wirkungsindizes haben die Immunisierungen mit *S.typhi murium*. Alle Werte liegen praktisch zwischen $WI = 1,6$ und $WI = 98,2$. Noch günstiger ist der Erfolg bei *E.coli*. Zwar reicht die Abweichung im 3s-Bereich von $WI = 21,5$ bis $WI = 123,5$, jedoch hat dieser Bereich nur theore-

tische Bedeutung, da eine Impfung nicht mehr als hundertprozentigen Erfolg haben kann. Praktisch beträgt die Streubreite also nur 78,5 gegenüber 96,6 bei *S.typhi murium*.

Die Standardabweichungen bei den Versuchsreihen mit *S.schwarzengrund* und *Col. SK-Virus* liegen mit den Werten $s = 20,7$ und $s = 25,3$ sehr hoch. Der $3s$ -Bereich erstreckt sich von $-19,9$ bis $104,1$ und $-21,8$ bis 130 . Eine negative Angabe des WI wird zwar nur als $WI = 0$ registriert, aber dennoch zeigen die Spannweiten von $124,2$ und $151,8$ umso deutlicher die sehr großen Schwankungen der Impferfolge.

Berücksichtigt man nun bei der Beurteilung der oralen Immunisierung sowohl die Größen der Wirkungsindizes als auch deren mittlere Abweichungen, dann sind die Impfungen mit *E.coli*-Keimen als am günstigsten zu betrachten. Eine gute Wirksamkeit, kombiniert mit geringen Abweichungen, garantieren bei fast allen Tieren ($99,73\%$) einen Impfschutz von mindestens $WI = 21,5$.

Bei den Versuchen mit *S.typhi murium* kann die geringere Standardabweichung des WI den viel tiefer liegenden Mittelwert bei weitem nicht kompensieren. Mit gleicher Sicherheit wie oben kann nur eine Mindestwirksamkeit von $WI = 1,6$ vorausgesetzt werden.

Der geringeren Standardabweichung bei *S.schwarzengrund*-Versuchen steht ein besserer WI-Mittelwert bei *Col.SK-Virus* gegenüber. Ungünstig bei beiden Impfungen ist jedoch die Voraussagewahrscheinlichkeit; sowohl mit einem $WI = 0$ als auch mit einem $WI = 100$ muß gerechnet werden.

In diesem Zusammenhang muß an die oben erwähnte Einschränkung erinnert werden, daß die Zuverlässigkeit eines statistischen Ergebnisses von der Größe des zugrunde liegenden Materials abhängig ist. Die mittleren WI-Werte der in dieser Arbeit zusammengefaßten Versuche weichen von den als Quellenmaterial dienenden Einzelversuche (s. o.) jeweils nur ge-

ringfügig ab. Die Standardabweichungen würden aber besonders bei den zahlenmäßig geringeren Versuchen mit S.schwarzengrund und Col.SK-Virus eine Einengung erfahren. Denn die Versuchsanzahl geht unmittelbar als Faktor in die Berechnungsformel der Standardabweichung mit ein (KOLLER, 8). Praktisch würde das bedeuten, daß sich mit steigender Versuchsanzahl die WI-Werte bei geringerer Streuung enger um den WI-Mittelwert gruppieren würden. Diese Tendenz zeigt sich auch bei den Standardabweichungen der Versuche mit S.typhimurium und E.coli, deren Werte sich gegenläufig der Versuchsanzahl verhalten. Bei S.schwarzengrund und Col.SK-Virus würde allerdings in jedem Fall ein geringer Unterschied vorhanden bleiben. Denn hier sind bei gleicher Versuchsanzahl verschiedene Abweichungswerte vorhanden, die auch bei einer größeren statistischen Gesamtheit zum Ausdruck kommen würden.

Abb. 14 zeigt die Verteilung der absoluten Anzahl der Versuche. Eindrucksvoll werden die verschieden großen Versuchszahlen der einzelnen Infektionsmodelle und die davon abhängigen Basisbreiten der Verteilungskurven sichtbar.

Tab. 6: Gesamthäufigkeit der Wirkungsindizes (Gruppeneinteilung)

Wirkungs- index	S.typhi murium	E.coli	S.schwarzen- grund	Col.SK-Virus
0,1 - 5	1	-	1	-
5,1 - 10	3	-	-	1
10,1 - 15	1	-	-	-
15,1 - 20	2	-	3	2
20,1 - 25	5	-	3	1
25,1 - 30	10	-	2	-
30,1 - 35	8	1	2	3
35,1 - 40	15	-	1	3
40,1 - 45	18	-	1	-
45,1 - 50	20	4	5	-
50,1 - 55	16	-	1	2
55,1 - 60	19	5	1	-
60,1 - 65	8	6	1	-
65,1 - 70	5	4	1	5
70,1 - 75	3	5	1	3
75,1 - 80	2	7	-	-
80,1 - 85	2	5	-	2
85,1 - 90	0	7	-	-
90,1 - 95	1	5	-	-
95,1 -100	1	6	1	2

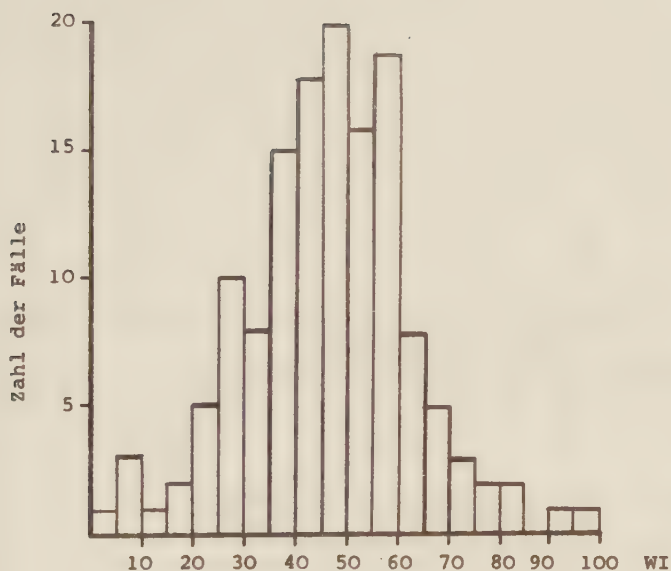


Abb. 9: *S.typhi murium*, Histogramm der Wirkungsindizes bei Einteilung in 20 Klassen - 143 Versuche

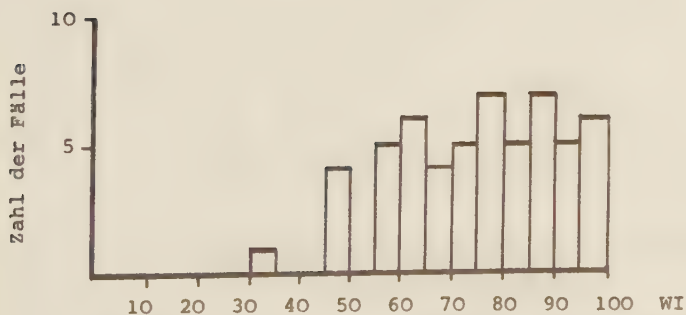


Abb. 10: *E.coli*, Histogramm der Wirkungsindizes bei Einteilung in 20 Klassen - 55 Versuche

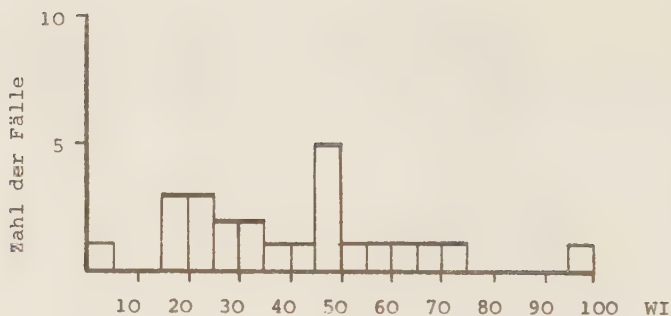


Abb. 11: S.schwarzengrund, Histiogramm der Wirkungsindizes bei Einteilung in 20 Klassen - 24 Versuche

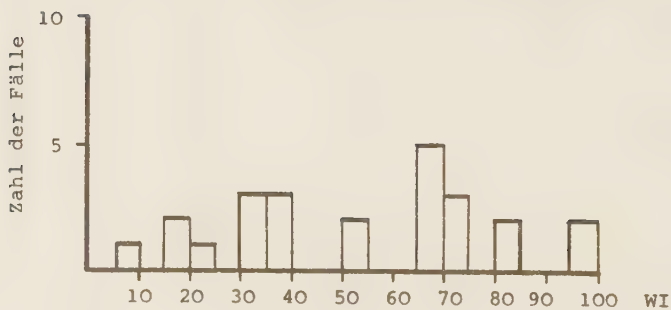


Abb. 12: Col.SK-Virus, Einteilung der Wirkungsindizes bei Einteilung in 20 Klassen - 24 Versuche

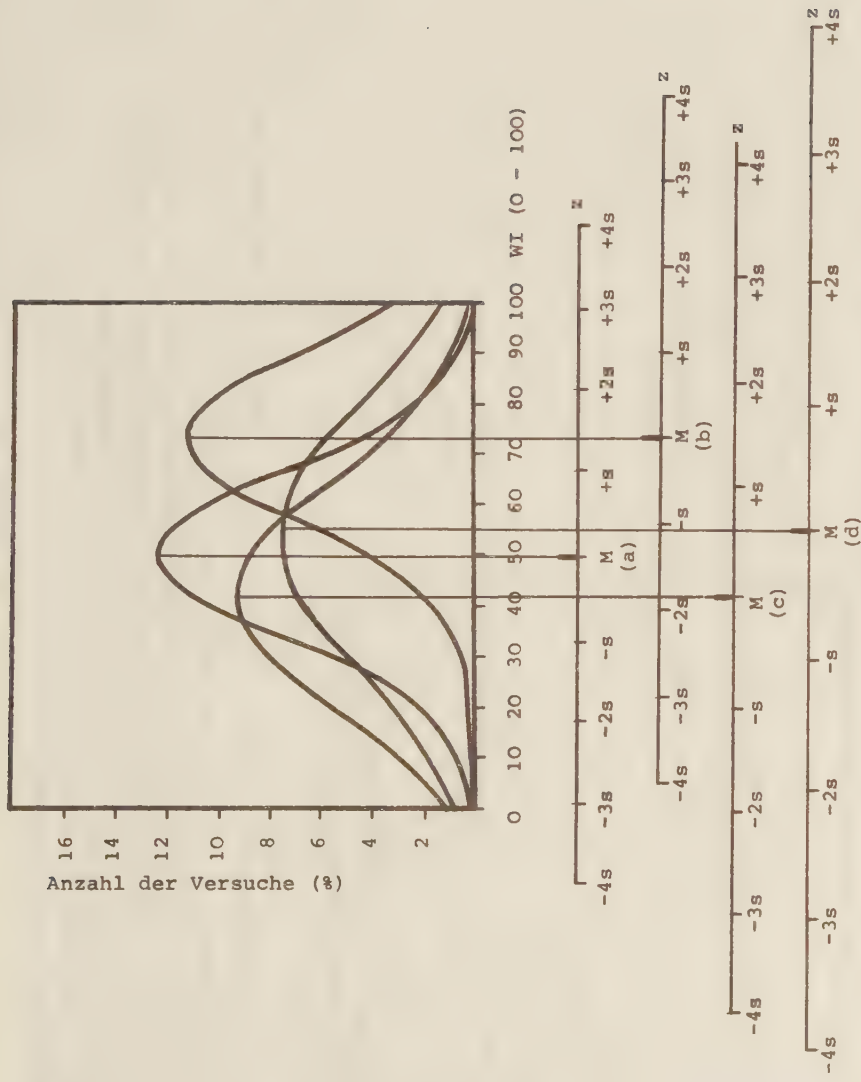


Abb. 13: Normalverteilungskurven der Wirkungsindizes
(prozentuale Darstellung)

Zu Abb. 13 u. 14:

- a = S. typhi murium
- b = E. coli
- c = S. schwarzengrund
- d = Col. SK-Virus

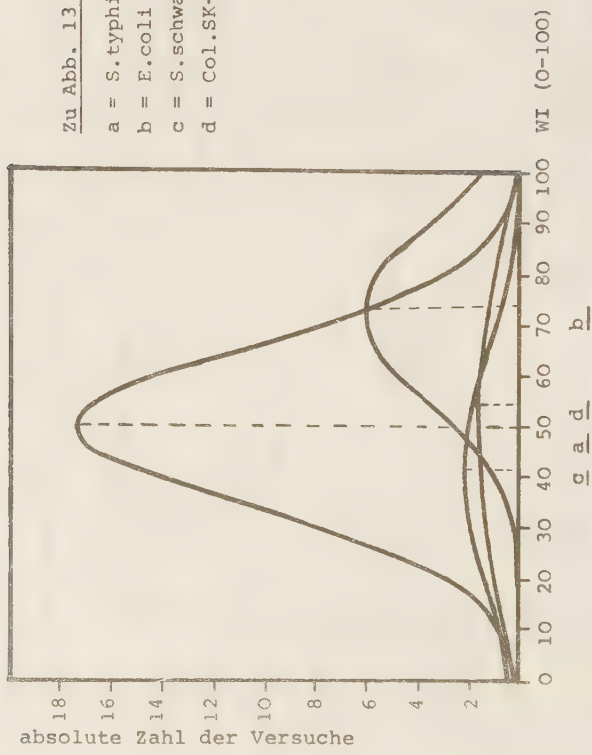


Abb. 14: Normalverteilungskurven der Wirkungsindizes (Darstellung der absoluten Fallzahlen)

Die Abszisse trägt die Einteilung des Wirkungsindex von 0 - 100. Unterhalb der Abszisse sind die z-Skalen mit der Standardabweichung s als Maßeinheit eingezeichnet. Unter Benutzung der jeweiligen z-Skala sind die Normalverteilungskurven dargestellt. Die Maximumordinaten (M) der mittleren Wirkungsindizes sind dabei zugleich Nullstellen der z-Skala. - Die außerhalb des WI-Bereiches von 0 - 100 liegenden Kurvenanteile sind nur von theoretischer Bedeutung.

Tab. 7: Statistische Angaben zu Abb. 13 und 14

	S. typhi murium	E. coli	S. schwarzengrund	Col. SK-Virus
Mittelwerte d. Wirkungs- indizes bei Klassen- einteilung	49,9	72,5	42,0	55,0
Anzahl der Versuche	143	55	24	24
Standardabweichung in WI	$\pm 16,1$	$\pm 17,0$	$\pm 20,7$	$\pm 25,3$
3s-Bereich in WI	1,6 - 98,2	21,5 - 100	0 - 100	0 - 100
(theoretischer Bereich)		(-123,5)	(-19,9 - 104,1)	(-20,9 - 130,9)
Spannweite des 3s-Bereichs	96,6	78,5	100,0	100,0
(theoretischer Bereich)		(102,0)	(124,2)	(151,8)
Standardfehler	1,4	2,1	4,2	5,2
% Anzahl der Versuche über Maximumsordinate	12,5	11,5	9,3	7,7
absolute Anzahl der Ver- suche über Maximumsordinate	17,5	6,8	2,2	1,8

*) Diese Werte zeigen geringe Abweichungen von oben genannten Zahlen (Tab. 5), da für die Normalverteilungsberechnungen eine Einteilung der Wirkungsindizes in Klassen vorgenommen wurde.

4. Analyse der Mortalitätsvorgänge und deren Vergleich

Das wichtigste Kriterium für den Erfolg einer Impfung ist der Unterschied der Morbidität bzw. Mortalität bei Immunisierten und Kontrollen. Für eine Analyse ist nicht nur die unterschiedliche Endmortalität von Interesse, sondern auch der zeitliche Verlauf der Mortalitäten.

Die in diesem Zusammenhang wichtigen Ergebnisse und statistischen Angaben für die jeweiligen Versuche zeigen die Tab. 8 - 11, in denen die Mortalitätsberechnungen aufgeschlüsselt für die einzelnen Sterbetage durchgeführt sind.

Zur graphischen Darstellung der Ereignisse sind jeweils drei Arten gewählt:

1. Summenkurven der Mortalitäten (Abb. 15 - 18)

Die unterschiedliche Steilheit in den ersten Tagen und der Abstand der Kurven der geimpften Tiere und der Kontrollen veranschaulichen die Größe des Impfschutzes.

2. Epidemiekurven (Abb. 19 - 22)

Diese Kurven zeigen deutlich die Mortalitätsraten der einzelnen Tage und den zugrunde liegenden Epidemietyp.

3. Indexkurven der Mortalitäten (Abb. 23 - 26)

Das zeitliche Verhältnis der Absterbegeschwindigkeiten von Immun- und Kontrolltieren kann hier besonders gut beobachtet werden. Zu deren Darstellung wurde die Endmortalität der geimpften und nichtgeimpften Tiere gleich 100 gesetzt und die übrigen Werte darauf umgerechnet (Tab. 8, Spalten 5, 6 und 10,11).

In den Summenkurven der Versuche mit *S.typhi murium* (Abb. 15) finden sich auch hier trotz des vielfach größeren Materials die bereits von RAETTIG beschriebenen Schwankungen (23). Die Darstellung der täglichen Sterbe-

fälle als Epidemiekurve (Abb. 19) bestätigt den dort gefundenen Mortalitätstyp einer Kontaktepidemie mit Vorschwankung, Gipfel und rhythmisch abfallendem Schenkel. Der Höhepunkt der Mortalitätsrate liegt am 10. Tag nach Infektion.

Die Mortalitätskurven der intraperitoneal gesetzten Infektionen (E.coli, Abb. 16 und S.schwarzengrund, Abb. 17) zeigen ein ähnliches Bild: Bei den meisten Tieren ist bereits innerhalb von 48 Stunden der schnelle toxische Tod eingetreten; danach sterben nur noch wenige Tiere. Die Werte der Endmortalitäten von Immunisierten und Kontrollen unterscheiden sich signifikant. Bei E.coli beträgt die Differenz 46,8 %, bei S.schwarzengrund 38,5 %. Die Epidemiekurven (Abb. 20, 22) veranschaulichen noch einmal deutlich die Sterbequote der einzelnen Tage im Sinne einer Explosions-epidemie: Schnell und ohne Schwankung wird am ersten Tag nach Infektion der Höhepunkt erreicht, und fast ebenso gleichmäßig fallen die Kurven wieder ab. Dabei kommt es bei den Immunisierten der Versuche mit S.schwarzengrund zu einem verzögerten Abklingen der Mortalitätsraten. Dieses Phänomen wird von KURSCHILGEN (12) ebenfalls beschrieben. In der Diskussion wird die Möglichkeit erwogen, daß die durch orale Impfung erworbene antiendotoxische Immunität, die für den Schutz gegenüber akuten Intoxikationen verantwortlich ist, höher liegt als die antiinfektiöse. Denkbar wäre auch, daß die Wirkung der Impfung so schnell nachläßt, daß sie in diesem Stadium nicht mehr voll wirksam ist. Eine Auslegung in diesem Sinne findet sich bei RAETTIG und MAMSCH (30) für entsprechende Tierexperimente mit Ruhrbakterien. Möglich wäre auch, daß mit zu hoher Keimzahl infiziert wurde und damit die Immunität teilweise durchbrochen wurde, wie KINNE-SAFFRAN, KURSCHILGEN, MARQUARDSEN und RAETTIG (5) bei ihren Versuchsreihen vermuteten. Dafür würde sprechen, daß bei diesem Infektionsmodell die Endmortalitäten der Kontrollen und besonders die der Immun-

tiere im Vergleich zu den anderen Versuchen (Tab. 8 - 11) außergewöhnlich hoch liegen.

Die schnelleren Absterbegeschwindigkeiten gegenüber den vergleichbaren intraperitonealen Infektionen mit E.coli (Abb. 24 u. 25) könnte ebenfalls in diesem Sinne interpretiert werden.

Die oral mit Col.SK-Virus infizierten Tiere zeigen ebenso wie die anderen Infektionsmodelle einen signifikanten Unterschied in der Endmortalität von Kontrolle und Immuntieren. Eine Besonderheit besteht jedoch bei dem Einsetzen der Mortalität nach oraler Infektion. Im Gegensatz zu den anderen Versuchen setzt der Sterbebeginn der Kontrollen 24 Stunden vor dem der Immuntiere ein (Abb. 18). Durch die Impfung wird also nicht nur die Mortalität gesenkt, sondern auch der Infektionsbeginn verzögert. Die Abwehr des Darmes gegenüber den enteropathogenen Viren scheint bei den oral geimpften Tieren verlängert zu sein, auch wenn es schließlich doch durch Schleimhautpassage zur tödlichen Virämie kommt.

Eine weitere Auffälligkeit des viralen Infektionsmodelles zeigt die Epidemiekurve (Abb. 21). Die Mortalität tritt nicht in so explosionsartiger Form auf wie bei den Versuchen mit E.coli und S.schwarzengrund. Die Kurven sind breiter und asymmetrischer. Auch am Tage nach dem Mortalitätsmaximum sterben noch relativ viele Tiere. Der prozentuale Anteil des Mortalitätsmaximums an der Endmortalität beträgt bei den Kontrollen nur 59,4 % (Tab. 11, Sp. 10) gegenüber 76,9 % bei E.coli und 84,1 % bei S.schwarzengrund. Bei den Mortalitäten der Immuntiere liegen die Verhältnisse ähnlich.

Die Absterbegeschwindigkeiten der Versuche zeigen alle ein verschiedenes Bild. Am ehesten ist noch ein Vergleich zwischen den Versuchen mit E.coli und S.schwarzengrund möglich. Beide Indexkurven steigen nach Infektion steil an. Die Überlebensdauer der Immuntiere ist in den ersten Tagen in glei-

cher Weise erhöht. Die höchste Absterbegeschwindigkeit erreichen, wie schon erwähnt, die mit *S.schwarzengrund* infizierten Tiere. Schon am 5. Tag erlangen Immuntiere und Kontrollen ihre Endmortalität. Bei *E.coli* ist die Absterbegeschwindigkeit der geimpften Tiere gegenüber den Kontrollen bis über den 6. Tag hinaus verzögert. Dieses spiegelt den guten Impfschutz wider ($WI = 73,5$), der ja nicht nur eine Senkung der Endmortalität bewirkt, sondern auch einen partiellen Schutz insofern verleiht, daß die Immuntiere später sterben als die Kontrollen. Die Mortalitätsindexkurve von *Col.SK-Virus* (Abb. 26) zeigt noch einmal die für die ersten 24 Stunden verhinderte Mortalität der oral geimpften Tiere gegenüber den Kontrolltieren. Im weiteren Verlauf ist die Verschiebung beider Kurven gegeneinander jedoch geringer als bei den anderen Infektionsmodellen. Falls es also trotz Immunisierung zur Krankheit kommt, wird deren Beginn um einen Tag gegenüber den nichtgeimpften Tieren hinausgezögert und bricht dann bei beiden Kollektiven in gleicher Intensität aus.

Der im Verhältnis zu den Endmortalitäten anfangs unproportionierte Anstieg der Mortalitätssummen von *S.typhi murium* (Abb. 15) tritt in der Indexgraphik (Abb. 23) als Überschneidung der Kurven in Erscheinung. Bis zum 6. Tag nach oraler Infektion sterben die geimpften Tiere in sehr geringem Maße früher als die Kontrollen. Dieses Phänomen der Frühsterblichkeit wurde bereits von RAETTIG, KORDES, B. und J. KORDES (9,10,23,26) beschrieben.

Eine sinnvolle Erklärung dieser Vorgänge bietet sich auch hier nicht an. Bei den übrigen Infektionsmodellen ist jedenfalls, wie schon beschrieben, die Überlebenszeit der Immuntiere gegenüber den Kontrollen deutlich verlängert. Dem zyklischen Infektionsgeschehen entsprechend, ist die Absterbegeschwindigkeit geringer als bei den anderen Versuchen. Erst einen Monat nach oraler Infektion sterben die letzten Tiere.

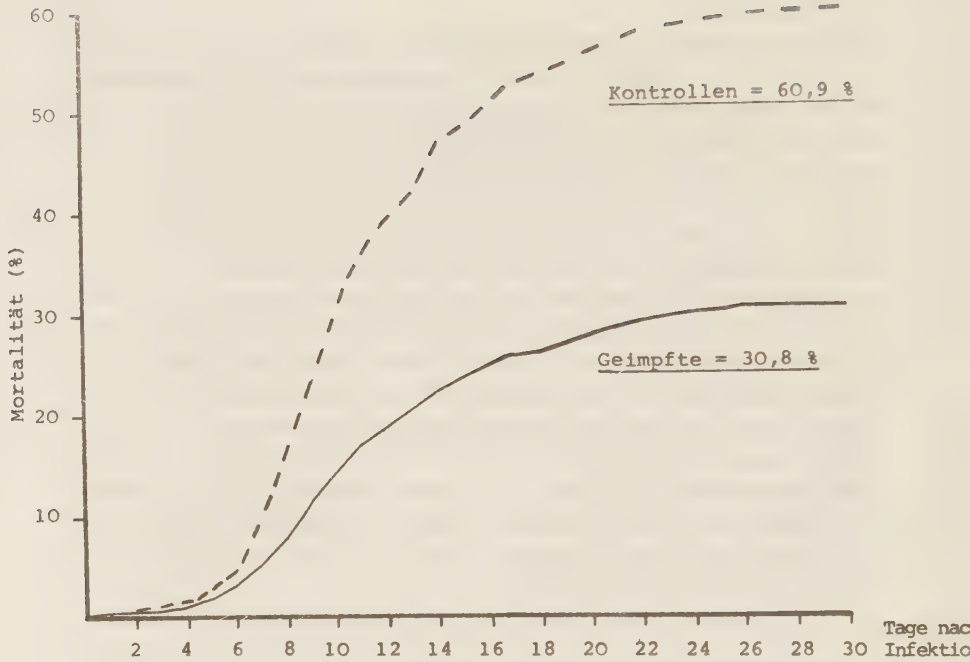


Abb. 15: Orale Immunisierung mit *S. typhi murium*
Summenkurve der Mortalität

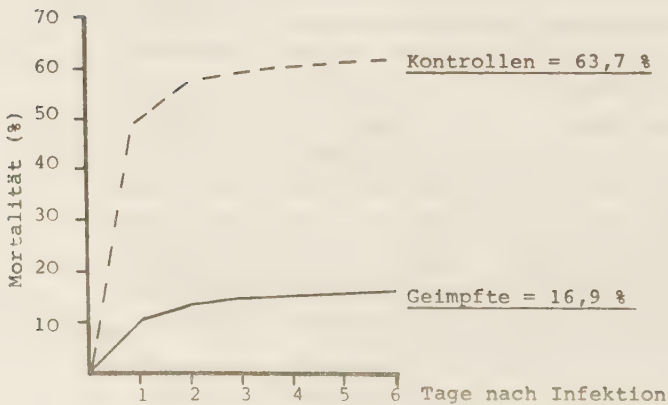


Abb. 16: Orale Immunisierung mit *E. coli*
Summenkurve der Mortalität

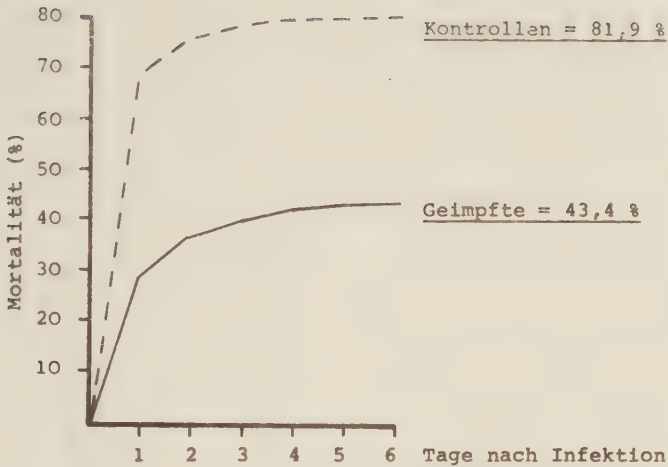


Abb. 17: Orale Immunisierung mit *S.schwarzengrund*
Summenkurve der Mortalität

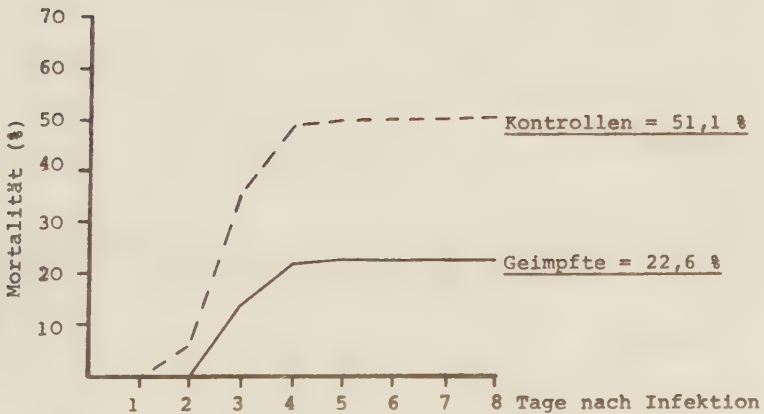


Abb. 18: Orale Immunisierung mit Col.SK-Virus
Summenkurve der Mortalität

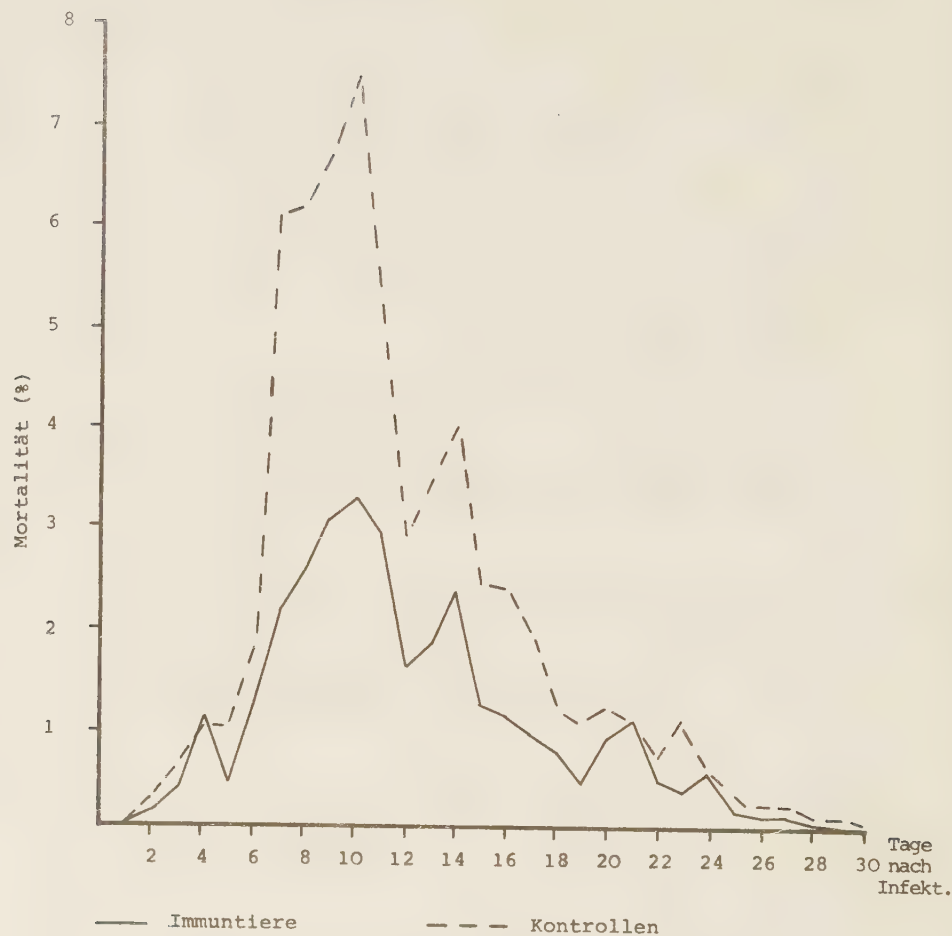


Abb. 19: Orale Immunisierung mit *S.typhi murium*
Epidemiekurve - Die täglich beobachteten
Todesfälle bei den Immunisierten und den
nichtgeimpften Kontrolltieren

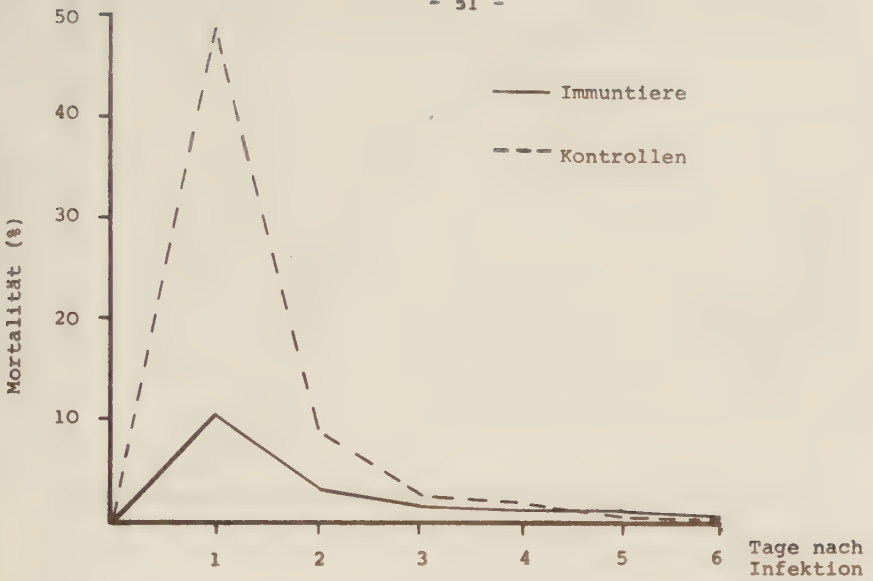


Abb. 20: Orale Immunisierung mit E.coli
Epidemiekurve

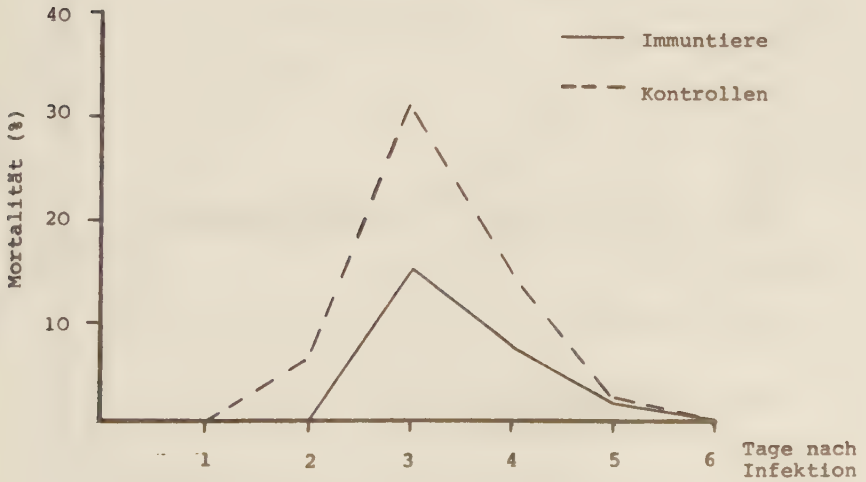


Abb. 21: Orale Immunisierung mit Col.SK-Virus
Epidemiekurve

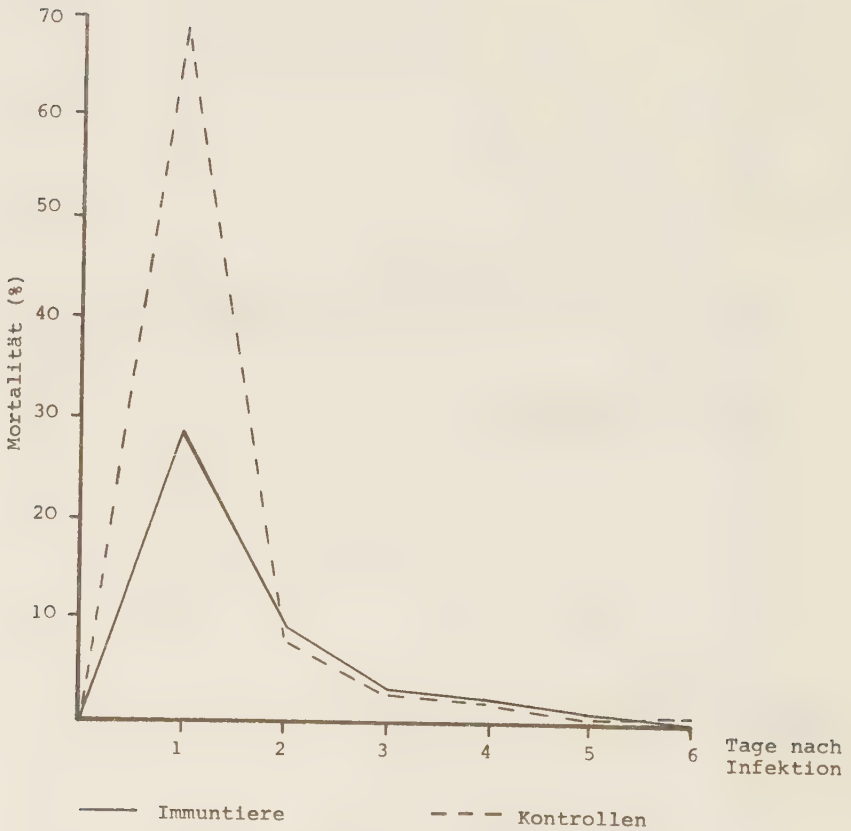


Abb. 22: Orale Immunisierung mit S.schwarzengrund
Epidemiekurve

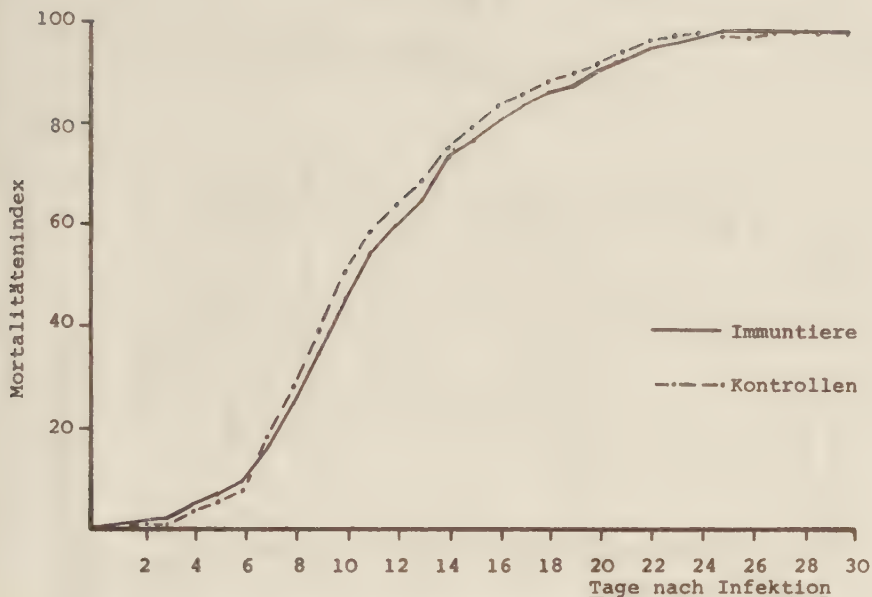


Abb. 23: Orale Immunisierung mit *S. typhi murium*
Summenkurven der Mortalitäten; die jeweilige Endmortalität ist = 100 gesetzt.

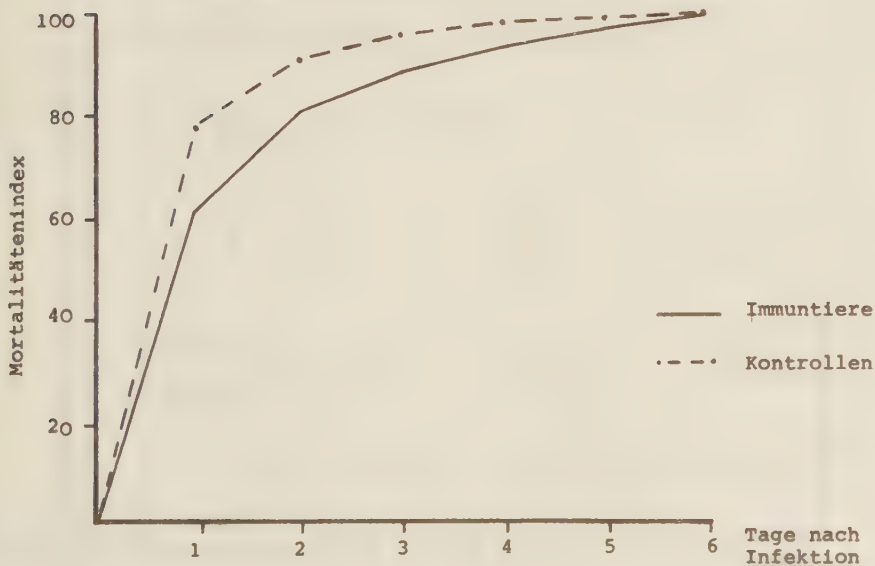


Abb. 24: Orale Immunisierung mit *E. coli*
Summenkurven der Mortalitäten

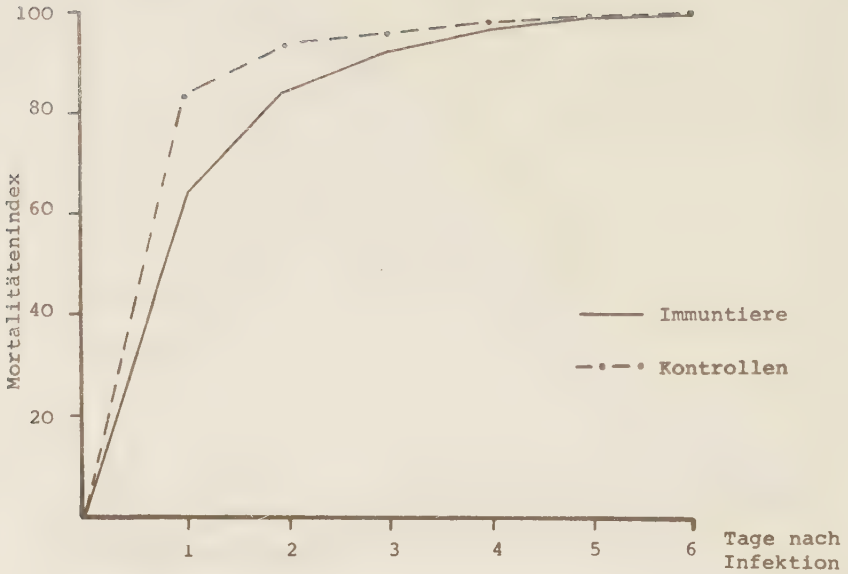


Abb. 25: Orale Immunisierung mit S.schwarzengrund
Summenkurven der Mortalitäten

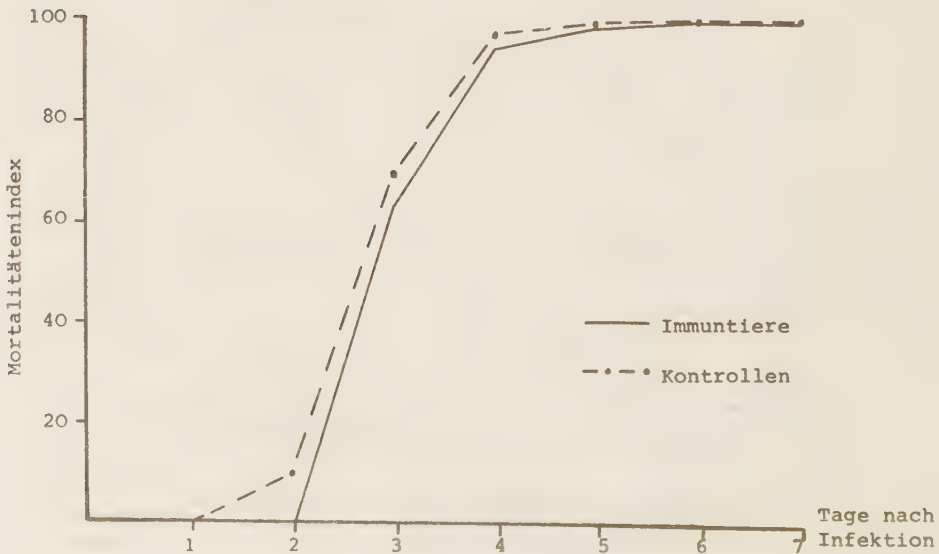


Abb. 26: Orale Immunisierung mit Col.SK-Virus
Summenkurven der Mortalitäten

Tab. 8: Ergebnisse und statistische Angaben der Mortalitätsverhältnisse nach oraler homologer Infektionsbelastung mit *S.typhi murium*

G e i m p f t e T i e r e						K o n t r o l l t i e r e					
Sterbetag	†	von % 8 844	% Summe	vom % Index	Index Summe	†	von % 6 709	% Summe	vom % Index	Index Summe	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	
1	5	0,1	0,1	0,2	0,2	4	0,1	0,1	0,1	0,1	
2	17	0,2	0,3	0,6	0,8	17	0,3	0,4	0,4	0,5	
3	35	0,4	0,7	1,3	2,1	37	0,6	1,0	0,9	1,4	
4	89	1,1	1,8	3,2	5,3	98	1,0	2,0	2,4	3,8	
5	37	0,4	2,2	1,4	6,7	63	1,0	3,0	1,5	5,3	
6	90	1,2	3,4	3,3	10,0	119	1,8	4,8	2,9	8,2	
7	192	2,2	5,6	7,1	17,1	408	6,1	10,9	10,0	18,2	
8	225	2,6	8,2	8,3	25,4	411	6,2	17,1	10,1	28,3	
9	270	3,1	11,3	9,9	35,3	448	6,7	23,8	11,0	39,3	
10 ⁺)	289	3,3	14,6	10,6	45,9	495	7,4	31,2	12,2	51,5	
11	258	2,9	17,5	9,4	55,3	345	5,2	36,4	8,5	60,0	
12	138	1,6	19,1	5,1	60,4	192	2,9	39,3	4,7	64,7	
13	157	1,8	20,9	5,8	66,2	222	3,4	42,7	5,4	70,1	
14	204	2,3	23,2	7,5	73,7	263	3,9	46,6	6,4	76,5	

+) Mortalitätsmaximum

Forts. S. 56

1
5
1

Geimpfte Tiere					Kontrolltiere				
Sterbetag	†	% von 8 844	% Summe	vom Index	†	% von 6 709	% Summe	vom Index	Index Summe
1.	2.	3.	4.	5.	7.	8.	9.	10.	11.
15	108	1,2	24,4	3,9	160	2,4	49,0	3,9	80,4
16	96	1,1	25,5	3,5	154	2,3	51,3	3,7	84,1
17	83	0,9	26,4	3,1	123	1,8	53,1	3,0	87,1
18	67	0,7	27,1	2,5	96	1,3	54,4	2,4	89,5
19	35	0,4	27,5	1,3	69	1,1	55,5	1,7	91,2
20	78	0,8	28,3	2,9	95	1,3	56,8	2,3	93,5
21	94	1,0	29,3	3,4	94,3	1,1	57,9	1,7	95,2
22	40	0,4	29,7	1,4	95,7	0,7	58,6	1,1	96,3
23	32	0,3	30,0	1,2	96,9	1,1	59,7	1,7	98,0
24	46	0,5	30,5	1,7	98,6	0,5	60,2	0,8	98,8
25	13	0,1	30,6	0,5	99,1	0,2	60,4	0,4	99,2
26	11	0,1	30,7	0,4	99,5	0,1	60,5	0,1	99,3
27	11	0,1	30,8	0,4	99,9	0,2	60,7	0,4	99,7
28	3	0,0	30,8	0,1	100,0	0,1	60,8	0,1	99,8
29	-	-	30,8	-	100,0	0,1	60,9	0,2	100,0

Gesamtzahl der geimpften Tiere: 8 844, davon gestorben 2 723 (= 30,8 %) 2 723 = Index 100

Gesamtzahl der Kontrolltiere: 6 709, davon gestorben 4 087 (= 60,9 %) 4 087 = Index 100

136 gewertete Versuche WI = 49,4

Tab. 2: Ergebnisse und statistische Angaben der Mortalitätsverhältnisse nach intraperitonealer homologer Infektionsbelastung mit E.coli 2380

Geimpfte Tiere						Kontrolltiere					
Sterbetag	†	von % 2 408	% Summe	vom Index	Index Summe	†	von % 2 527	% Summe	vom Index	Index Summe	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	
1 ^{+) 1}	250	10,4	10,4	61,4	61,4	1 235	48,9	48,9	76,9	76,9	
2	77	3,2	13,6	18,9	80,3	227	9,0	57,8	14,1	91,0	
3	32	1,3	14,9	7,9	88,2	75	2,9	60,8	4,7	95,7	
4	20	0,8	15,7	4,9	93,1	48	1,9	62,7	3,0	98,7	
5	12	0,5	16,2	2,9	96,0	12	0,5	63,2	0,7	99,4	
6	11	0,5	16,7	2,7	98,7	9	0,4	63,6	0,6	100,0	

Gesamtzahl der geimpften Tiere: 2 408, davon gestorben 407 (= 16,9 %) 407 = Index 100

Gesamtzahl der Kontrolltiere: 2 527, davon gestorben 1 606 (= 63,6 %) 1 606 = Index 100

+) Mortalitätsmaximum; WI = 73,4; 55 gewertete Versuche

(Bei den Immuntieren sind innerhalb der sechs registrierten Sterbetage nur 402 der 407 Mortalitätsfälle aufgetreten; daher ergibt die Summenaddition in Spalte 4 nur 16,7 und der Indexwert in Spalte 6 nur 98,7.)

Tab. 10: Ergebnisse und statistische Angaben der Mortalitätsvorgänge nach intraperitonealer Infektionsbelastung mit S.schwarzengrund

Geimpfte Tiere						Kontrolltiere					
Sterbetag	†	von % 1 250	% Summe	von % Index	Summe	†	von % 1 112	% Summe	von % Index	Summe	Index Summe
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	
1+)	350	28,0	28,0	64,5	64,5	765	68,8	68,8	84,0	84,0	
2	116	9,3	37,3	21,4	85,9	91	8,2	77,0	10,0	94,0	
3	37	2,9	40,2	6,8	92,7	23	2,1	79,1	2,5	96,5	
4	26	2,1	42,3	4,8	97,5	19	1,7	80,8	2,1	98,6	
5	9	0,7	43,0	1,6	99,1	1	0,1	80,9	0,1	98,7	
6	5	0,4	43,4	0,9	100,0	12	1,0	81,9	1,3	100,0	

Gesamtzahl der geimpften Tiere: 1 250, davon gestorben 543 (= 43,4 %) 543 = Index 100
Gesamtzahl der Kontrolltiere: 1 112, davon gestorben 911 (= 81,9 %) 911 = Index 100

+) Mortalitätsmaximum; WI = 46,9 24 gewertete Versuche

Tab. 11: Ergebnisse und statistische Angaben der Mortalitätsverhältnisse nach oraler homologer Infektionsbelastung mit Col.SK-Virus

Geimpfte Tiere					Kontrolltiere					
Sterbetag	†	von % 536	% Summe	von Index Summe	†	von % 560	% Summe	von Index Summe	†	von Index Summe
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	29	5,2	5,2	10,1	10,1
3+)	76	14,2	14,2	62,8	62,8	170	30,3	35,5	59,5	69,6
4	38	7,1	21,3	31,4	94,2	79	14,1	49,6	27,6	97,2
5	6	1,1	22,4	5,0	99,2	7	1,3	50,9	2,4	99,6
6	1	0,2	22,6	0,8	100,0	1	0,2	51,1	0,4	100,0
7	-	-	22,6	-	100,0	-	-	51,1	-	100,0
8	-	-	22,6	-	100,0	-	-	51,1	-	100,0

Gesamtzahl der geimpften Tiere: 536, davon gestorben 121 (= 22,6 %) 121 = Index 100
Gesamtzahl der Kontrolltiere: 560, davon gestorben 286 (= 51,1 %) 286 = Index 100

+) Mortalitätsmaximum; WI = 55,8; 24 gewertete Versuche

Die Angaben in den Tab. 8 - 11 stimmen teilweise nicht mit den Daten der Tab. 5 überein, da für diese Berechnungen nicht alle Versuche geeignet sind.

5. Prüfung einer Beziehung zwischen Wirkungsindex und Mortalität der Kontrolltiere

Das Hauptkriterium zur Bestimmung des Impferfolges nach der Gleichung $WI = \frac{(b-a) \times 100}{b}$ ist die Differenz zwischen der Mortalität der Immuntiere und den ungeimpften Kontrollen. Hierbei bleibt die Mortalitätsgröße unberücksichtigt. Extrem betrachtet, kann - unter der Voraussetzung, daß keine Immuntiere gestorben sind - ein $WI = 100$ erreicht werden, wenn die Kontrollenmortalität = 100 % ist, oder dieselbe nur 10 % beträgt. Gleiches gilt für andere Wirkungsindizes. Ein WI von 50 kann z. B. durch 100 % Mortalität der Kontrollen und 50 % Mortalität der Geimpften, aber ebenso bei nur 50 % Mortalität der Kontrollen sowie 25 % Mortalität der Immuntiere eintreten.

Tatsächlich ist diese unterschiedliche Mortalitätsrate der Kontrolltiere nicht nur von theoretischem Interesse. Bei Versuchen mit *E.coli* beschreiben LIETZ und RAETTIG (14) bei hoher Mortalität der Kontrollen sowohl geringen Impfschutz als auch maximale Wirksamkeit. Bei unspezifischer Immunisierung fand LIETZ (13) den besten Schutz bei geringer Mortalität der Kontrollen, bei WESTENDORF (37) war es umgekehrt. Gleiche Beobachtungen macht man hier beim Studium der Tabellen (Tab. 1 - 4) resp. der Betrachtung der durch Punkte dargestellten Wertepaare von WI und Mortalität der Kontrollen in den Abb. 27 - 30.

Zur Untersuchung der Beziehung zwischen beiden Größen wurde zunächst die graphische Darstellung gewählt. Auf der Abszisse ist die Mortalität der Kontrollen, auf der Ordinate der Wirkungsindex aufgetragen. Jedes Wertepaar symbolisiert ein Versuchsergebnis. Die eingezeichnete gerade Linie, die sich den Beobachtungspunkten am besten anpaßt, und deren Verlauf nach der Methode der kleinsten Quadrate der Abweichungen nach KOLLER (8) berechnet wurde, wird Regressionsgerade genannt. Die Mortalität der Kontrollen wurde für diese Berechnung in zehn Klassen zu 10 % eingeteilt.

Als Maß der Steigungen dieser Geraden dient der Richtungs- oder Regressionskoeffizient R , der folgende Größen hat:

S.typhi murium: $R = -2,88$

E.coli: $R = +0,49$

S.schwarzengrund: $R = -0,51$

Col.SK-Virus: $R = -0,35$

Für *S.typhi murium* bedeutet das eine durchschnittliche Abnahme des Wirkungsindex von 2,88 % pro Mortalitätsklasse der Kontrollen etc. Aufgrund der starken Streuung der Punkte in den Abb. 27 - 30 scheint jedoch die Prüfung angebracht, ob es sich um eine wirkliche Zu- bzw. Abnahme des Wirkungsindex oder nur um Zufallsabweichungen handelt.

Zur Ermittlung der statistischen Sicherheit wird der Korrelationskoeffizient r errechnet, in dem die Streuung um die Gerade bereits enthalten ist. Der Korrelationskoeffizient dient zur Messung der Stärke eines geradlinigen Zusammenhanges zwischen zwei Variablen. Diese Zahl kann variieren zwischen den Werten $+1$ bis -1 ; r -Werte kleiner als null bedeuten gegensinnige, r -Werte größer als null gleichsinnige Beziehung der Größen. Bei $r = 0$ liegt überhaupt kein Zusammenhang vor. In diesem Fall muß dann noch die sogenannte Nullhypothese geprüft werden, weil die Berechnungen der Werte nur auf eine begrenzte Anzahl von Beobachtungen basieren und als solche einen Fehlerreich besitzen, d. h. selbst bei einer gewissen Abweichung von null könnte trotzdem absolute Unabhängigkeit beider Veränderlichen bestehen. Nach KOLLERS Tafeln ergibt sich für diese Versuche zur Erfüllung der Nullhypothese ein Spielraum von $r = \pm 0,76$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % bzw. $r = \pm 0,63$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Bei Korrelationswerten innerhalb dieses Bereiches ist also keine statistisch gesicherte Beziehung zwischen den Größen vorhanden. Für diese Versuche ergeben sich folgende Korrelationswerte:

S.typhi murium $r = -0,67$

E.coli $r = +0,09$

S.schwarzengrund $r = -0,05$

Col.SK-Virus $r = -0,03$

Das bedeutet, daß bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % statistisch bei keiner Versuchsreihe ein Zusammenhang zwischen Wirkungsindex und Mortalität der Kontrollen verifiziert wird.

Geht man allerdings von einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % aus, so kommt man für die Immunisierung mit S.typhi murium zu einer negativen Korrelation der Größen. Mit diesem Kriterium als Maßstab wäre die statistische Sicherung des ersten Wertes gegeben. Dann kann man feststellen, daß bei oraler Immunisierung mit S.typhi murium der Erfolg der Impfung mit stärkerer Infektionsbelastung - dies ist gleichbedeutend mit der Zunahme der Kontrollmortalitäten - ungünstiger wird.

Bei Immunisierungen mit S.schwarzengrund und Col.SK-Virus scheinen die Tendenzen in gleicher Richtung zu liegen, bei E.coli ist es eher umgekehrt. Diese Aussagen sind aber in keinem Fall statistisch belegt und sind nur als Vermutungen anzusehen.

Zusammenfassend muß man also feststellen, daß eine feste a u f f ä l l i g e Beziehung zwischen dem Wirkungsindex und der Mortalität der Kontrolltiere bei keinem Infektionsmodell vorhanden ist.

Dies deutete sich schon bei der Besprechung der Mortalitätsvorgänge an. Die höheren Kontrollmortalitäten der intraperitonealen Infektionen mit E.coli und S.schwarzengrund waren nicht in gleicher Weise mit einem höheren Wirkungsindex verbunden: E.coli hatte den besten WI = 73,5, S.schwarzengrund bei höchster Mortalität den schlechtesten WI = 46,7 (Tab. 8 - 11).

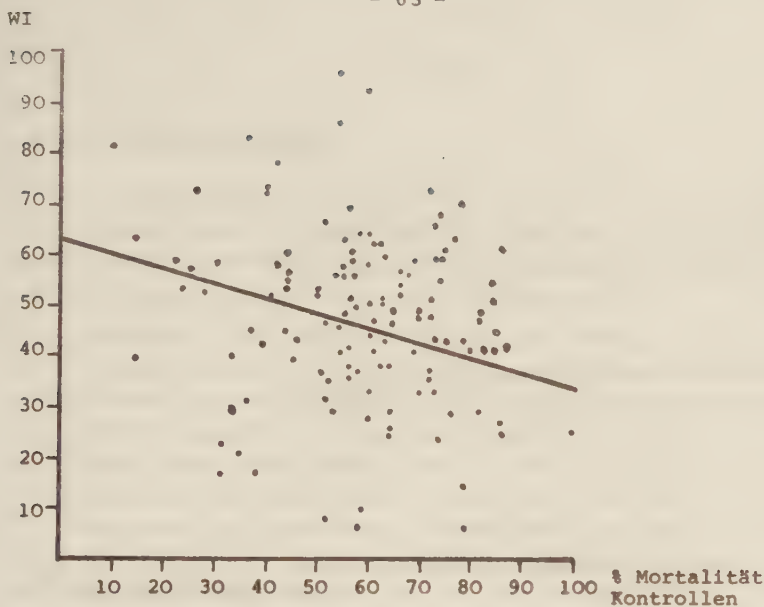


Abb. 27: Orale Immunisierung mit *S. typhi murium*,
Regressionsgerade
 Regressionskoeffizient $R = -2,88\%$ Mortalitätsklasse (10 %)
 Korrelationskoeffizient $r = -0,67$

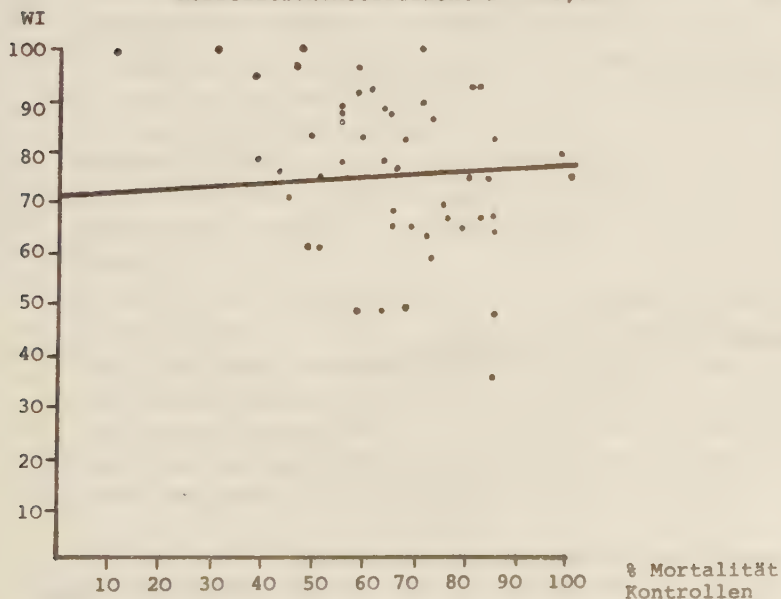


Abb. 28: Orale Immunisierung mit *E. coli*, Regressionsgerade
 Regressionskoeffizient $R = +0,49\%$ Mortalitätsklasse (10 %)
 Korrelationskoeffizient $r = +0,09$

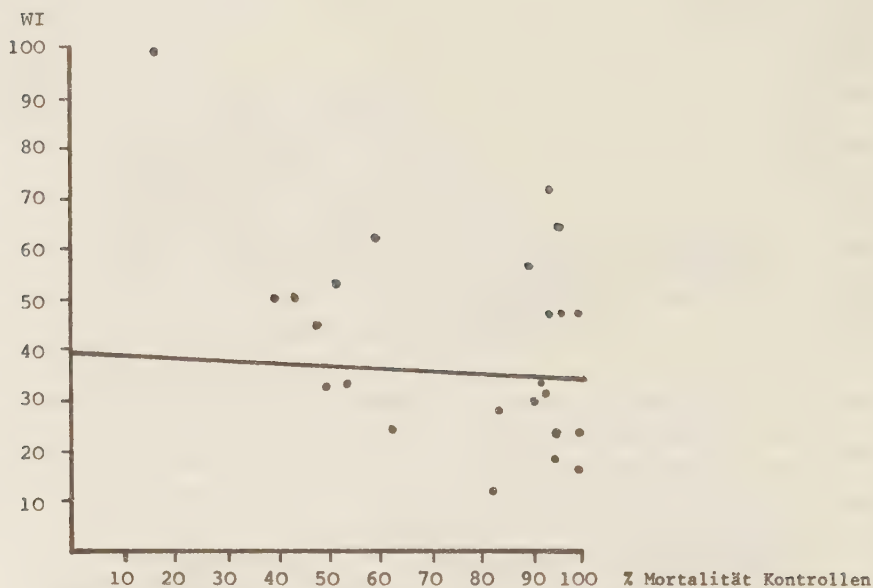


Abb. 29: Orale Immunisierung mit S. schwarzengrund, Regressionsgerade
 Regressionskoeffizient $R = -0,51\%$ / Mortalitätsklasse (10 %)
 Korrelationskoeffizient $r = -0,05$

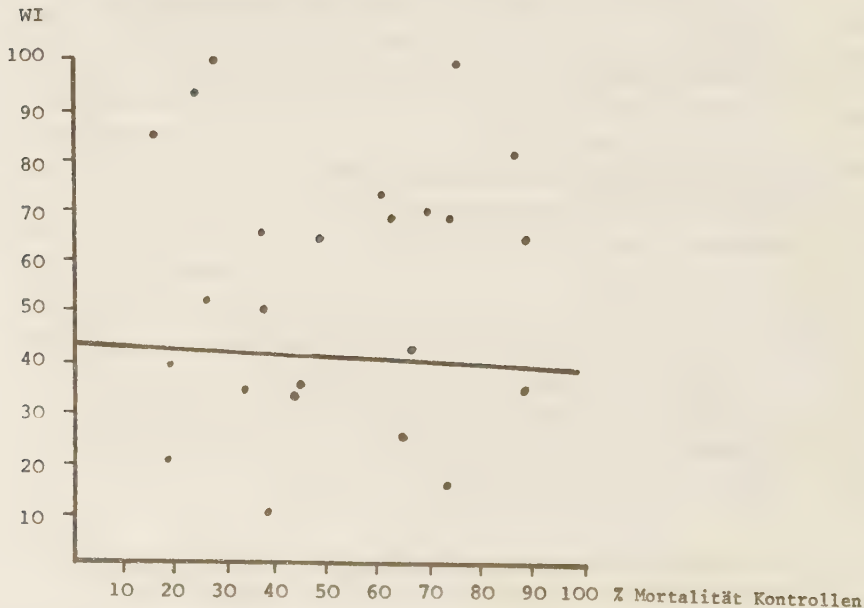


Abb. 30: Orale Immunisierung mit Col.SK-Virus, Regressionsgerade
 Regressionskoeffizient $R = -0,35\%$ / Mortalitätsklasse (10 %)
 Korrelationskoeffizient $r = -0,03$

IV. Zusammenfassung

Das gesamte Material der bisher am Robert Koch-Institut mit weißen Mäusen durchgeführten Versuche der oralen Immunisierung mit hitzeinaktivierten Mikroorganismen und anschließender homologen Infektion wurde zusammengestellt.

Es handelt sich um drei Impfungen mit bakteriellen Keimen, *S.typhi murium*, *E.coli* 2380 und *S.schwarzengrund* und einem Virusmodell mit Columbia SK-Virus. Zwei Infektionen wurden oral durchgeführt - *S.typhi murium* und Col.SK-Virus - zwei Infektionen wurden wegen ihrer oralen Apathogenität intraperitoneal gesetzt, *E.coli* und *S.schwarzengrund*. Bei der statistischen Bearbeitung und dem Vergleich der auf diesem Gebiet einmalig umfangreichen Versuchszahlen kommt man zu folgenden Ergebnissen:

1. Der Impferfolg bei Versuchen mit *S.typhi murium* und *E.coli* zeigt keine jahreszeitliche Abhängigkeit. Nur bei den Kontrolltieren der *S.typhi murium*-Versuche kann eine Zunahme der Mortalität im Frühjahr und Herbst festgestellt werden.
2. Sämtliche hitzeinaktivierten, spezifischen Impfstoffe schützen bei homologer Infektion signifikant. Der höchste Impfschutz wird bei *E.coli* erreicht; es folgen *S.typhi murium*, Col.SK-Virus und *S.schwarzengrund*. Die Höhe des Wirkungsindex steht in keinem direkten Zusammenhang zur bakteriellen oder viralen, oralen oder intraperitonealen Infektionsart.
3. Die *S.typhi murium*-infizierten Tiere sterben an einer Kontaktepidemie, *E.coli*, *S.schwarzengrund* und Col.SK-Virus-infizierte Tiere an einer explosionsartigen Epidemie. Die Überlebenszeit aller Immuntiere ist deutlich verlängert. Nur bei *S.typhi murium*-Infektion kommt es in den ersten sechs Tagen zum Phänomen sehr geringer Frühsterblichkeit der Immuntiere gegenüber den Kontrollen.

4. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Wirkungsindex und Mortalität der Kontrolltiere kann weder für die oralen noch für die intraperitonealen Infektionsmodelle verifiziert werden.

V. Literaturverzeichnis

- (1) BARTELHEIMER, R.: Wirksamkeit einer oralen Immunisierung mit verschiedenen, inaktivierten R-Stämmen von *S.typhi murium* im Mäuseschutzversuch, Diss., Berlin 1973
- (2) BIRNSCHEIN, E.: Die Schutzwirkung von oral gegebenen Bakterienfraktionen im Tierversuch, Diss., Berlin 1971
- (3) BRADLEY, J.I., J.N. CLETLAND: Grundlegende statistische Begriffe, Hans Huber Verlag, Bern-Stuttgart, 2. Aufl.
- (4) KINNE-SAFFRAN, E.: Tierversuche zur oralen Impfung gegen menschenpathogene, Enteritis erregende Salmonellen, Diss., Berlin 1967
- (5) KINNE-SAFFRAN, E., E. KURSCHILGEN, A. MARQUARDSSEN, H. RAETTIG: Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 9. Mitt.: Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Infektionen durch Enteritiserregende Salmonellen. Zbl.Bakt. I. Orig. 208 (1968), 37-57
- (6) KOHLSCHMIDT, K.: Gibt es nach hochdosierter, oraler Impfung mit *S.typhi murium*-Antigenen eine Immunparalyse?, Diss., Berlin 1970
- (7) KOLB, H.J.: Erfolg der oralen Impfung mit Zellwand- und Protoplasmafraktionen aus *S.typhi murium* im Mäuseschutzversuch, Diss., Berlin 1971
- (8) KOLLER, S.: Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen, D. Steinkopff Verlag, 4. Aufl., Darmstadt 1969
- (9) KORDES, B.: Orale Immunisierung von Mäusen mit Impfstoffen aus physikalisch inaktivierten *S.typhi murium*-Bakterien, Diss., Berlin 1969
- (10) KORDES, I.: Vergleichende Tierexperimente mit Impfstoffen aus chemisch inaktivierten *S.typhi murium*-Bakterien bei oraler und subcutaner Immunisierung, Diss., Berlin 1969

- (11) KORDES, I., B. KORDES, H. PICHL, B. GANZE, H. RAETTIG:
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 12. Mitt.: Immunogenität verschieden inaktivierter S.typhimurium-Vollantigene im Mäuseschutztest, Zbl.Bakt. I.Orig. 217 (1971), 242-253
- (12) KURSCHILGEN, E.M.: Vergleichende Tierversuche zur unspezifischen Wirkung der oralen Immunisierung mit Enteritis-erregenden Salmonellen, Diss., Berlin 1969
- (13) LIETZ, B.: Orale Impfung mit inaktivierten Dyspepsiecoli-Bakterien bei Mensch und Tier, Diss., Berlin 1969
- (14) LIETZ, B., H. RAETTIG: Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 5. Mitt.: Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Dyspepsiecoli-Infektionen, Zbl.Bakt. I.Orig. 204 (1967), 543-554
- (15) MARQUARDSEN, A.: Über die Wirkung von Kombinationsimpfstoffen aus Enterobacteriaceen am Modell der oralen Immunisierung der weißen Maus, Diss., Berlin 1970
- (16) MOCHMANN, H., H.W. OCKLITZ, L. HERING, E.F. SCHMIDT, U. RICHTER: Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natriumdesoxycholat-Extrakt aus Dyspepsie-coli-Stämmen, 5. Mitt.: Die Gruppenspezifität der Schutzwirkung und der Schutzeffekt einer bivalenten Immunisierung im aktiven Mäuseschutzversuch, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 206 (1968), 63-71
- (17) MOCHMANN, H., H.W. OCKLITZ, E.F. SCHMIDT, L. HERING, J. MILLECK: Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natriumdesoxycholat-Extrakt aus Dyspepsie-coli-Stämmen, 3. Mitt.: Die Schutzwirkung des Extraktes im aktiven Mäuseschutzversuch, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 203 (1967), 314

- (18) OCKLITZ, H.W., H. MOCHMANN, J. MILLECK, L. HERING, E.F. SCHMIDT: Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natrium-desoxycholol-Extrakt aus Dyspepsiecoli-Stämmen, 4. Mitt.: Der Schutzeffekt verschiedener Zellpräparationen aus Dyspepsiecoli-Keimen im Vergleich zur Schutzwirkung des Na-desoxycholol-Extraktes, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 205 (1967), 502-509
- (19) OCKLITZ, H.W., H. MOCHMANN, E.F. SCHMIDT, L. HERING, I. MARKUSE: Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natriumdesoxycholol-Extrakt aus Dyspepsiecoli-Stämmen, 3. Mitt.: Immunologische Eigenschaften. Die Antikörperbildung im Versuchstier und der passive Schutzversuch, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 203 (1967), 307
- (20) PIRINGER, W.A.: Orale Immunisierung weißer Mäuse durch Dyspepsiecoli, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 196 (1965), 463-468
- (21) PREHL, H.: Tierexperimentelle Prüfung des Präparates OMNIFLORA auf seine unspezifische Wirksamkeit gegen intraperitoneale Infektion der Maus mit Dyspepsiecolibakterien, Diss., Berlin 1971
- (22) PRITCHETT, J.W.: Journ. exp. Med. 41 (1925), 209
- (23) RAETTIG, H.: Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 1. Mitt.: Der Grundversuch zur Schutzimpfung der Maus gegen eine Enteritis-Infektion, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 193 (1964), 398
- (24) - Tierexperimente zur Resorptionsvirämie, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 192 (1964), 534
- (25) - Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 191 (1963), 97
- (26) - Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 2. Mitt.: Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei der Enteritis-Infektion der Maus, Zbl.f. Bakt. I.Orig. 197 (1965), 368

- (27) RAETTIG, H.: Neue Modellversuche zur Infektabwehr des Darmes, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 198 (1965), 206
- (28) - Erste Tierversuche zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Virus, Zbl.f.Bakt. I.Ref. 204 (1966), 170
- (29) - Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 3. Mitt.: Dosierung und Impfrhythmus bei der spezifischen Impfung der Maus gegen Salmonellen-Enteritis, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 203 (1967), 478
- (30) RAETTIG, H., R. MAMSCH: Oral vaccination against shigellosis by means of heat killed bacteria, Arch.immunol.et ther.exp. 16 (1968), 324
- (31) RAETTIG, H., A. MARQUARDSEN: Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 11. Mitt.: Wirksamkeit von Kombinationsimpfstoffen aus Enterobakteriazeen - Vollantigen im Mäuse-schutztest, Zbl.f.Bakt. I.Orig. 215 (1970), 296
- (32) RAETTIG, H.: Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch-Institut, Bundesgesundheitsblatt, 14. Jg. (1971), 141-147
- (33) RAETTIG, H., B. GANZE: Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen, 14. Mitt.: Aktive und passive Immunisierbarkeit von Babymäusen gegenüber einer S.typhi murium-Infektion, Zbl.f.Bakt.Hyg. I.Orig. A. 218 (1971), 310
- (34) RAETTIG, H.: Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung, Wiener Med. Wochenschrift 115 (1965), 33
- (35) SCHMUDDE, R.: Vergleichende orale, nasale und rektale Impfung von Mäusen mit inaktivierten S.typhi murium-Bakterien mit und ohne Dimethylsulfoxyd-Zugabe, Diss., Berlin 1968

- (36) STEFFEN, R.: Die Zeitkinetik des Schutzes nach oraler Impfung, nachgewiesen am Modell der Dyspepsiecoli-Infektion der weißen Maus, Diss., Berlin 1973
- (37) WESTENDORF, G.: Wirkung einer unspezifischen oralen Impfung mit Bifidusbakterien am Modell der oralen S.typhi murium- und intraperitonealen E.coli-Infektion der Maus, Diss., Berlin 1972

Lebenslauf

Am 10. April 1945 wurde ich als erstes Kind des praktischen Arztes Dr. med. Paul Bleibtreu und dessen Ehefrau Anneliese, geb. Koppelman, in Engelschoff bei Stade geboren.

1951 wurde ich eingeschult, wechselte 1955 auf das Gymnasium in Stade über und legte dort als Schüler des altsprachlichen Zweiges im März 1965 die Reifeprüfung ab. Anschließend studierte ich zwei Semester Naturwissenschaften an der Universität Hamburg.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin, bestand im August 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1969 die ärztliche Vorprüfung.

Am 1. März 1973 habe ich in Berlin das medizinische Staatsexamen abgelegt.

